

(Aus dem Zoologischen Institut der Universität Köln.)

DIE CYTOLOGISCHE GRUNDLAGE DER PARTHENOGENETISCHEN DIOOGONIE.

Von

ERICH REISINGER, z. Z. im Felde.

Mit 18 Textabbildungen (68 Einzelbildern).

(Eingegangen am 25. Juni 1940.)

Inhaltsübersicht.

	Seite
I. Einleitung	531
II. Tatsachenmaterial	533
1. Chromosomenformwechsel	533
2. Chromosomenfeinbau	542
III. Theoretische Auswertung	548
Zusammenfassung	552
Literatur	553

I. Einleitung.

Dioogonie, die obligatorische Entwicklung eines einzigen Keimes aus zwei Eizellen, stellt die *normale Fortpflanzungsweise* der allöoölen Turbellarie *Bothrioplana semperi* BRAUN dar. Sie wird bei dieser Form noch dadurch kompliziert, daß sie mit dauernder Parthenogenese und einem ausgeprägten Chromosomenform- und Kernphasenwechsel verknüpft ist (REISINGER 1923, 1926; BRESSLAU 1934). Da es seinerzeit an Hand meines steirischen Materials und der noch unzulänglichen Methodik nicht möglich war, die cytologischen Besonderheiten der ersten entscheidenden Teilungen restlos aufzuklären, so habe ich auf einen Erklärungsversuch und auf eine eingehendere Darstellung verzichtet und mich mit der einfachen Feststellung des Prinzipiellen begnügt. Nachdem infolge der ungünstigen Kulturbedingungen in Köln Zuchtversuche an hiesigen Tieren mehrfach fehlgeschlagen waren, gelang es, die bestehenden Schwierigkeiten (Wasser- und Temperaturverhältnisse) zu beseitigen, sowie die Untersuchungstechnik zu vervollkommen und damit die Lücken der alten Untersuchungen zu schließen.

In Köln arbeitete ich anfangs mit einem sehr fortpflanzungsfreudigen Stamm aus der hiesigen Umgebung (Frankenforst-Königsforst), der sich leider durch die für den Untersucher unangenehme biologische Eigentümlichkeit auszeichnet, daß die Würmer ihre Eikapseln zu verschiedenen Tageszeiten bilden und vor der Ablage, regellos und individuell wechselnd, bald längere, bald kürzere Zeit im Genitalatrium mit sich herumtragen.

Die richtige chronologische Einordnung der ersten, besonders schwierig zu analysierenden Stadien wird dadurch fraglich und hat mich mehrmals zu Widersprüchen bei der Deutung der Chromosomenverhältnisse geführt. Endgültige Klarheit brachte erst ein neuer Stamm aus Niedernberg/Main, den ich dankenswerterweise von W. NOLL, Naturwissenschaftliches Museum der Stadt Aschaffenburg, erhielt (vgl. NOLL 1939) und der sich gegenüber dem Kölner Material durch einen stark ausgeprägten, zeitlich festgelegten Eiablagerhythmus und frühzeitige Ablage der gebildeten Eikapseln auszeichnet.

In technischer Hinsicht ist die Bearbeitung der Entwicklung von *Bothrioplana* nicht ganz einfach. Anfänglich war ich ausschließlich auf Schnittserien angewiesen, deren Anfertigung bei der Widerstandsfähigkeit der Eikapselschale auf beträchtliche Schwierigkeiten stößt. Die Kapseln müssen bereits in der Fixierungsflüssigkeit mit feinen Glasnadeln angestochen werden; nach dem Einbetten werden sie entweder im Paraffin unter dauerndem Umbetten geschält oder aber mit der Kapselschale geschnitten, was nur bei sorgfältiger Anwendung von Mastix-Kollodiumaufstrichen möglich ist. Letzteres Verfahren war auf die Dauer rationeller und für die oberflächlich gelegenen Blastomeren schonender. Im Laufe der Jahre wurden die verschiedensten Fixierungsflüssigkeiten erprobt. Bei der Undurchdringlichkeit der Eikapselschale und der notwendigerweise (Vermeidung von Extravaten und stärkere Zerstörung des Kapselinhaltes) geringen Weite der Anstichöffnungen schieden alle Fixierer mit geringer Diffusionsgeschwindigkeit, wie Flemming, Champy u. dgl. zugunsten rasch eindringender Gemische aus. Am besten bewährt haben sich schließlich folgende zwei Lösungen: 1. *Sublimat-Formol A* (nach BROCH) = Subl. conc. wäbr. 1 Teil, Formol (40% Formaldehyd) 1 Teil, Wasser 3 Teile; 5% Eisessigzusatz unmittelbar vor Gebrauch. 2. *Sublimat-Pikroformol* von folgender Zusammensetzung: 1 Teil Langeron Pikroformol (1 Teil Formol, 3 Teile Wasser, Pikrinsäure zur Sättigung), 1 Teil Sublimat conc. wäbr., 1 Teil verdünntes (1 Formol: 3 Wasser) Formol; 5% Eisessigzusatz unmittelbar vor Gebrauch. Bei richtiger Anwendung sind die Ergebnisse beider Methoden vorzüglich; Sublimat-Pikroformol ist etwas überlegen, erfordert aber bei dem Dotterreichtum der *Bothrioplana*-Eier sorgsame Lithiumkarbonatnachbehandlung zwecks Erzielung guter Schneidbarkeit. Die Chromosomen von *Bothrioplana* sind nach den angegebenen Fixierungen mit allen gebräuchlichen Kernfarbstoffen präzise färbbar. Neben Eisenhämatoxylin hat sich die Kernechtrot-Mallory-Färbung besonders gut bewährt: bei Verwendung von Grünfiltern erhält man Bilder, die den allerbesten Eisenhämatoxylinfärbungen an die Seite gestellt werden können. Versuche, die Chromosomenverhältnisse während der ersten Teilungsschritte auch auf Ausstrichen von Eikapselinhalt zu untersuchen, gelangen befriedigend erst nach einer modifizierten Anwendung der in der Speicheldrüsen-Chromosomenforschung üblichen Essigkarminmethode. Ich bringe hierbei die zu untersuchende Eikapsel in ein *kleines* Tröpfchen kalte K.E.S. (1–2% Formolzusatz hat sich gut bewährt) und lege ein *großes* Deckglas darauf, auf dessen Unterseite ein etwas kleineres, mit Essigkarminlösung durchtränktes (mindestens $\frac{1}{2}$ Stunde) Cellophanblättchen haftet. Durch vorsichtigen Druck wird die Kapsel zum Platzen und Auslaufen gebracht, die Kapillarität besorgt alles Weitere. Nach einigen Minuten Ruhe wird an den Deckglasrand weitere Karminlösung gebracht, bis das Deckglas von selbst abschwimmt. Das Cellophanblättchen kann nun an der Ecke gefaßt und abgezogen werden, während der Ausstrich unversehrt auf dem Objektträger, von Farbe bedeckt, zurückbleibt. Es wird entweder während der Färbung in K.E.S. direkt untersucht, oder nach eventueller Differenzierung in HCl-Alkohol in Euparal oder Caedax eingeschlossen.

II. Tatsachenmaterial.

1. Chromosomenformwechsel.

Bothrioplana semperi BRAUN ist in seiner Organisation¹ nach den Tricladen nahestehender, allöcöler Strudelwurm, der sich ausschließlich geschlechtlich fortpflanzt und dessen, der Anlage nach zwittriger, Geschlechtsapparat durch weitgehende *Rudimentation der männlichen Organe* ausgezeichnet ist. Es treten höchstens 2 Hodenfollikel im Pharynx-bereich auf, das Kopulationsorgan ist klein und muskelschwach und wird in der Regel beim Erreichen der vollen weiblichen Geschlechtsreife wieder eingeschmolzen. Bei optimalen Ernährungsbedingungen unterbleibt bei über 90% der mitteleuropäischen Individuen überhaupt jede Ausbildung von männlichen Geschlechtsorganen. Auch die Spermatogenese weist — in den wenigen Fällen, in denen es überhaupt zur Samenbildung kommt — Abnormitäten auf, die auf Sterilität der spärlichen Spermien schließen lassen.

Die weiblichen Gonaden sind wie bei allen lecithophoren Turbellarien in Keim- und Dotterstöcke differenziert; erstere bilden dotterarme, entwicklungsfähige Keim(„Ei“)zellen, letztere dotterreiche Abortivzellen, die das für die Embryonalentwicklung benötigte Nährmaterial liefern, sich selbst jedoch nicht am Aufbau des Keimes beteiligen. Bei jeder Ovation werden, entsprechend der paarigen Ausbildung der Keimstöcke, jeweils 2 Keimzellen frei, die in das Genitalatrium ausgeleitet werden, um dort zusammen mit den gleichzeitig abgehenden Dotterzellen in der für Turbellarien üblichen Weise das *ektolecithale Ei* bzw. die *Eikapsel* zu bilden. Die beiden Keimzellen haben den Wert von Oocyten I. O., haben also noch keine Reifeteilung hinter sich. Sie kommen normalerweise dicht nebeneinander in den dorsalen Bereich der im Atrium befindlichen Eikapsel zu liegen (Abb. 1), dicht umlagert von den zahlreichen Dotterzellen. In der Regel erfolgt die Eiablage bald nach der Kapselbildung, seltener wird die Kapsel länger, im Maximum bis zu 12 Stunden, im Atrium zurückbehalten. Die Eibildung bei den Tieren des eingangs erwähnten Niedernberger Stammes erfolgte recht regelmäßig in den frühen Morgenstunden (4–6 Uhr), die Ablage der Eikapseln 1–2 Stunden später. Die Regel, daß in den Eikapseln der *Bothrioplana semperi* stets zwei Eizellen enthalten sind, die sich zu einem einzigen Embryo entwickeln, gilt ausnahmslos; sie konnte sowohl an europäischem Material (Alpen, Mittel- und Westdeutschland) als auch an solchem aus Grönland (Kapisigdlit im Godthaab-Fjord) und dem Sunda-Archipel (REISINGER 1933/34) festgestellt werden.

Die in der frisch gebildeten Eikapsel liegenden beiden Keimzellen zeigen einen bläschenförmigen Kern mit einem großen Nukleolus (Abb. 1); sie erweisen sich, entsprechend dem oben Gesagten, stets als unbesamt, ihre bald einsetzende Teilung erfolgt mithin *parthenogenetisch*. Die ersten

¹ Ein naturalistisches, von mir entworfenes Organisationsbild findet sich in BRESSLAU 1934, S. 102.

Veränderungen erfolgen *synchron in beiden Zellen* und ähneln der Prophase einer normalen somatischen Mitose (Abb. 2). Sie führen zum Auftreten einer deutlichen *Zentralspindel* und von 20 (16 große, 2 mittlere, 2 Kleinchromosomen) *telomitischen Chromosomen*, die sich auf dem Spindelmantel

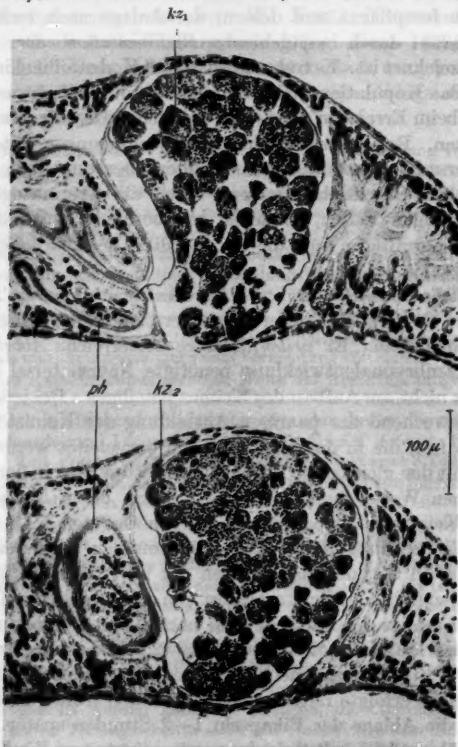


Abb. 1. *Bothrioplana semperi* BRAUN. Zwei in einem gegenseitigen Abstand von 20 μ , durch ein trächtiges Tier gelegte Sagittalschnitte, um die Lage der beiden Keimzellen (kz_1 , kz_2) zu zeigen. In der Umgebung der Keimzellen liegen zahlreiche Dotterzellen, die Kapselschale ist noch dünn. Vor der im Genitalatrium liegenden Eikapsel gewahrt man Anschnitte des Pharynx (ph). Hämatoxylin-Eosin, Photo.

ansammeln. Die erwähnte Chromosomenzahl entspricht der *Normalzahl* in allen generativen Zellen (Dotterzellen und Keimzellen) und der *Minimalchromosomenzahl* in den somatischen Zellen von *Bothrioplana* (Abb. 3).

Ähnlich wie es zuerst beim Schwein (HANCE 1917/18), später bei zahlreichen anderen tierischen und pflanzlichen Objekten (vgl. u. a. SCHWAGO und Mitarbeiter 1936, 1937) festgestellt worden ist, ist die Zahlenkonstanz der Chromosomen in

den somatischen Körperzellen nur bedingt gewahrt. Im Darmepithel, in Drüsen- und Bindegewebszellen sind oft „zu hohe“ Zahlen festzustellen; die geringe Größe der Einzelchromosomen solcher Mitosen könnte dafür sprechen, daß es sich eher um Fragmentation, als um somatische Polyploidie handelt.

Uneingeschränkt scheint die Zahlenkonstanz für die Keimstock- und Dottersackzellen, d. h. für das gesamte generative Zellmaterial des Tieres

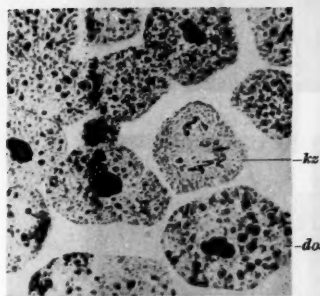


Abb. 2.

Abb. 2. *Bothrioplana*. Frühe Prophase. *ks* Keimzelle; *doz* Dottersackzelle. Die Eikapsel befindet sich im Genitalatrium, die Dottersackzellen bilden noch kein Syncytium und haben noch nicht allen Schalendotter ausgestoßen. Hämatoxylin-Eosin, Photo.

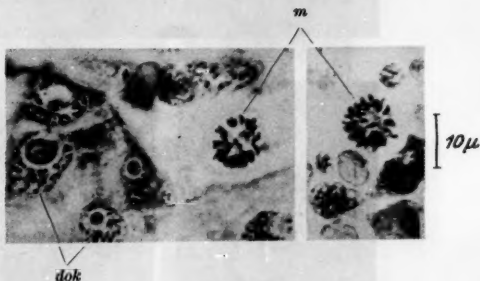


Abb. 3.

Abb. 3. *Bothrioplana*. Somatische Mitosen *m* auf dem Äquatorialplattenstadium. Beachte die geringe Chromosomenzahl (ein Teil ist bereits längsgespalten) und die langgestreckte Chromosomenform. *dok* Dottersackkerne. Kernechtrot-Mallory, Photo.

zu gelten, soweit die Zählungen bei der vielfach ungünstigen und unübersichtlichen Chromosomenlage überhaupt eindeutig sein können.

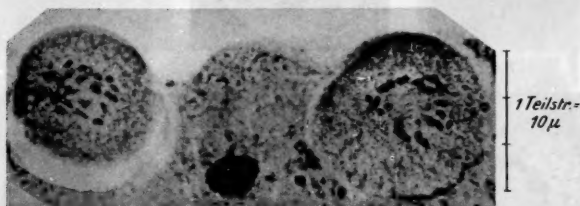
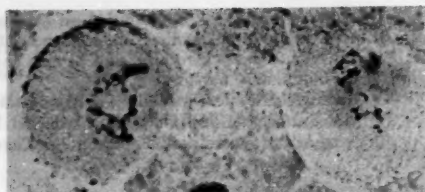


Abb. 4. *Bothrioplana*. Prophase. Es sind die beiden Keimzellen einer Kapsel parallel zur Äquatorialebene getroffen. In der rechten Blastomere erkennt man die mantelartige Anordnung der Chromosomen rings um die quer getroffene Zentralspindel. Kernechtrot-Mallory, Photo.

Vorübergehend stellen sich die 18 Großchromosomen mehr oder weniger parallel zur Spindellängsachse am Spindelläquator ein und ermöglichen dann bei geeigneter Schnittführung eine exakte Zählung (Abb. 4). Die Ablage der Eikapsel, in der die Dottersackzellen noch selbständig erhalten sind, erfolgt in der Regel auf diesem Stadium, kann sich gelegentlich allerdings noch viel länger hinausschieben. Nach der Kapselablage



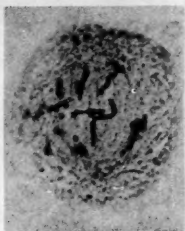
a



b



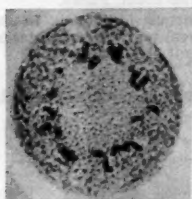
c



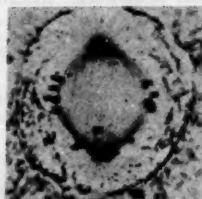
d



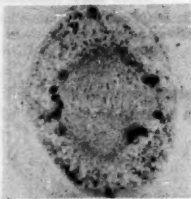
e



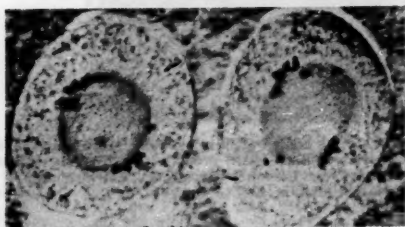
f



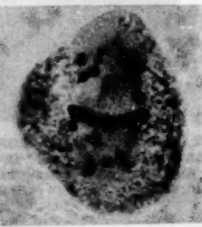
g



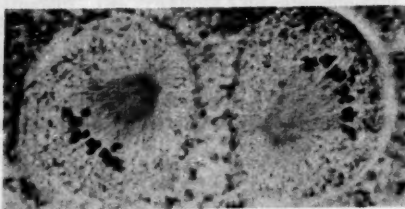
h



i



j



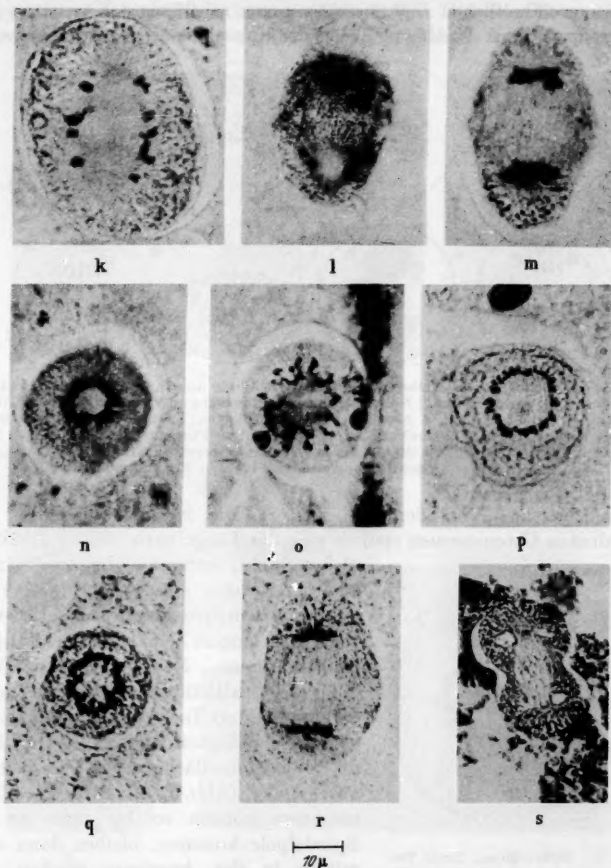


Abb. 5a—s. *Bothrioplana*. Chromosomenformwechsel nach Schnittbildern. a—d Prophase; e Längsspaltung; f—h Chromosomenverkürzung; i Metaphase in zwei aufeinanderfolgenden Schnitten derselben Serie; beginnende Chromatidenbildung; j Anaphase in zwei aufeinanderfolgenden Schnitten derselben Serie, beachte die *scheinbare* Quertellung der Chromosomen in je zwei Chromatiden; k—m Anaphase; n Diaster in Flächenansicht, Chromatiden vollständig getrennt, Chromosomensatz mithin verdoppelt; o späte Prophase der zweiten Furchungsteilung; p Äquatorialplatte der zweiten Furchungsteilung, 40 Chromosomen; q—r Anaphase der zweiten Furchungsteilung; s Telophase, Durchschnürung der Blastomere und Karyomeritenbildung. Eisenhämatoxylin und Kernechtrot-Mallory Präparate. Alle Teilbilder bei derselben Vergr. photographiert.

beginnen die Dotterzellen, wohl unter dem Einflusse von Stoffen, die die Keimzellen abscheiden (taube Kapseln, die wohl Dotterzellen, jedoch keine Keimzellen enthalten, lassen diese Veränderungen vermissen!)

zu einem einheitlichen *Dottersyncytium* von zähflüssiger Konsistenz zusammenzufließen. Unabhängig von der Kapselablage gehen unterdessen

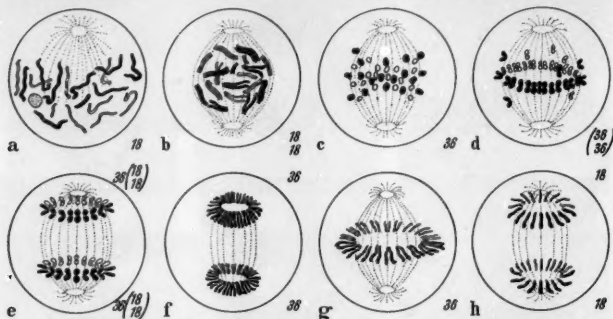


Abb. 6a—h. *Bothrioplana*. Halbschematische Darstellung des Chromosomenformwechsels. a Prophase zur ersten Teilung; b Chromosomenverdoppelung; c Verkürzung, Restitutionsstadium; d Dyadenbildung; e Anaphase; f Tochterplatten; g Metaphase einer Zelle des 4-Blastomerenstadiums; h Tochterplatten der zweiten Furchungsteilung. Die 2 bzw. 4 Kleinchromosomen sind aus didaktischen Gründen (Übersichtlichkeit) weggelassen, die jeweiligen Großchromosomenzahlen bei den Figuren vermerkt.

die mitotischen Veränderungen weiter. Die im Spindeläquator angeordneten Chromosomen spalten sich der Länge nach, die Spalthälften

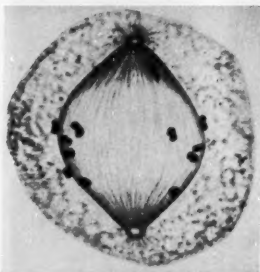


Abb. 7. *Bothrioplana*. Erste Teilungsspindel in Restitution. Die vorübergehend ziemlich weit gegen die Pole auseinandergewichenen Chromosomen beginnen in den Spindeläquator zurückzuwandern und nehmen dabei eine bohnenförmige Gestalt als Zeichen der Spaltung in Chromatidenpaare an. Aus zwei Schnitten kombiniert.

rücken dann, untereinander unabhängig und heterochron auseinander, wobei sie mit ihrem dem Spindelansatz benachbarten Ende noch längere Zeit aneinander hängenbleiben können. Nach vollzogener Trennung der Spalthälften verkürzen sich die langgestreckten Tochterchromosomen mit großer Schnelligkeit und weichen entlang der Spindeloberfläche gegen die Pole zu auseinander (Abb. 5, 6). Einzelne Chromosomen können so bis nahe an die Spindelpole kommen, bleiben dann aber mitten in der Anaphase stecken und schließlich wandern alle Chromosomen wieder gegen den Spindeläquator zurück, ein Vorgang, der als eine Art von *Restitutionskernbildung* aufgefaßt werden kann. Die Chromosomen nehmen während dieser

Vorgänge eine gedrungene, bohnenförmige Gestalt an (Abb. 7) und spalten sich in der weiter unten (S. 545) eingehender zu schildernden Weise erneut in je zwei Chromatiden. Das Endergebnis ist ein *tetraploider Aster* aus 40 gedrunge[n] gebauten, aus je zwei Chroma-

tiden bestehenden Chromosomen (Abb. 5, 6). Ob die Chromosomen bei ihrer Rückwanderung an ihren ursprünglichen Ausgangsplatz im

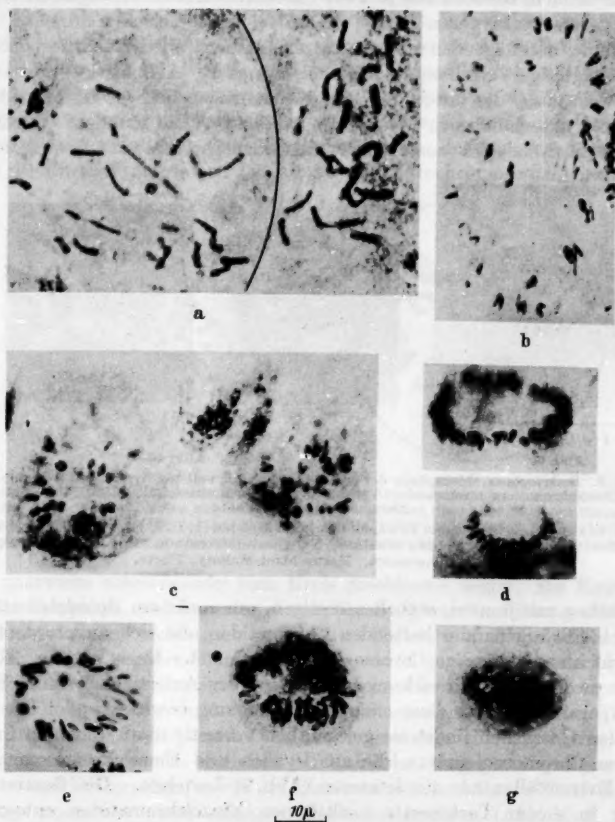


Abb. 8a—g. *Bothrioplana*. Chromosomenformwechsel nach Ausstrichpräparaten. a Prophase, die eingezeichnete Kreislinie scheidet die Sortimente der nebeneinander gelegenen beiden Keimzellen, im rechten Sortiment Längsspaltung begonnen; b, c Dyaden; d Äquatorialplatte (oben) und Tochterplatte (unten) der ersten Teilung in Seitenansicht; e Prophase der zweiten Teilung mit birnförmigen Chromosomen; f Äquatorialplatte der zweiten Teilung mit wurstförmigen Chromosomen; g Tochterplatte der zweiten Furchungsteilung mit reduziertem Satz, beachte die 2 Kleinchromosomen in der Mitte des Sternes. — a Sublimat-Hämatoxylin; b Bouin-Hämatoxylin; alles übrige K.E.S.-Präparate. Photo.

Spindeläquator zurückkehren, das läßt sich an den Präparaten unmöglich entscheiden. Für eine solche Annahme spricht neben allgemeinen Erwägungen jedoch die Tatsache, daß man an vielen Stellen Andeutungen

einer paarweisen Lagerung, also ein Wiederzusammentreffen der ursprünglichen Tochterchromosomen beobachten kann. Da diese aber jetzt nicht mehr einfach, sondern aus je zwei Chromatiden zusammengesetzt sind, so ergeben sich bisweilen Bilder, die an meiotische Tetraden erinnern.

In der nun folgenden zweiten Anaphase erfolgt, wiederum heterochron, die endgültige Verteilung der Chromatidenpaare (Abb. 5j, k) und damit die *Vollendung* des durch den Restitutionsprozeß und die Chromatidenbildung unterbrochenen *ersten Teilungsschrittes*. Die nunmehr endgültig gegen die Spindelpole auseinanderweichenden Chromosomen bzw. Dyaden

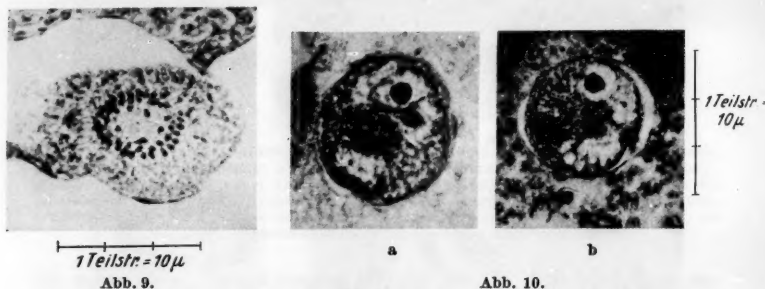


Abb. 9.

Abb. 10.

Abb. 9. *Bothrioplana*. Metaphase der ersten Teilung mit vollständigem Zerfall der Dyaden in Einzelchromosomen (anormales Verhalten aus Warmwasserkultur [20°]). Sublimat, Eisenhämatoxylin. Photo.

Abb. 10a und b. *Bothrioplana*. Tetraploide (a) und diploide (b) Blastomere. a 4-Blastomerenstadium: 2 Nukleolen, Sphäre erhalten; b 8-Blastomerenstadium: 1 Nukleolus, Sphäre verschwunden. Kernechtrot-Mallory, Photo.

bestehen aus je zwei, stäbchenförmigen, nur mehr am Spindelansatzpol (Abb. 5k) aneinander haftenden Chromatiden, die sich außerordentlich leicht als selbständige Chromosomen voneinander lösen können. Nicht nur mechanische Einwirkungen, z. B. bei der Anfertigung von K.E.S.-Präparaten, können diese endgültige Trennung bewirken; auch im normalen Geschehen findet sie gelegentlich vorzeitig statt und man findet dann Chromosomensätze, die aus Dyaden und Einzelchromosomen, ja in Extremfällen nur aus letzteren (Abb. 9) bestehen. Die Gesamtzahl der in einem Tochtersatz enthaltenen Einzelchromatiden entspricht dabei immer der doppelten Normalzahl.

Ich erhielt den Eindruck, als ob die vorzeitige Trennung durch äußere Faktoren bestimmt wird; denn Eier, die kühl (10–14°) gestanden hatten, zeigten in den Metaphasen fast nur Chromatidenpaare, solche, die höheren Temperaturen (18–20°) ausgesetzt waren, sehr oft bereits vollständig getrennte Einzelchromosomen. *Bothrioplana* bevölkert im Freien größtenteils Gewässer (Bäche, Quellen, Grundwasser u. dgl.), deren Temperatur nur selten über 15° ansteigt: das Aneinanderhaften der Chromatiden am Spindelfaserpol während der Anaphase entspricht mithin dem nor-

malen Verhalten, der vorzeitige Zerfall in getrennte Chromosomenpaare ist wahrscheinlich schon pathologisch.

Die stäbchenförmigen, v-artig klaffenden Chromatiden (Abb. 5k, 8c) jeder Dyade behalten während der ganzen Polwanderung ihre ursprüngliche Orientierung bei, d. h. sie liegen in meridionalen Ebenen. Im Bereiche der Spindelpole angekommen, sammeln sich die Chromosomen zu typischen Diastern (Abb. 5m, n). Dabei erfolgt, soweit das nicht schon vorher geschehen ist, die endgültige Trennung der Chromatidenpaare, so daß nun jeder Tochterstern am Beginne der Anaphase aus 40 Einzelchromosomen (36 Makro-, 4 Mikrochromosomen) besteht,

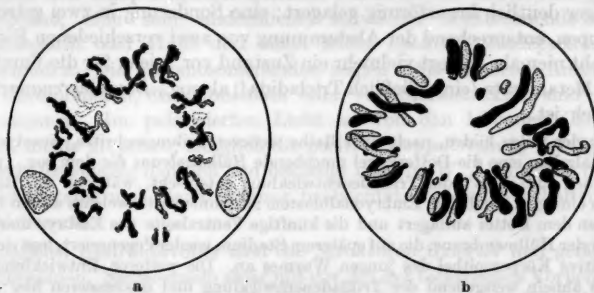


Abb. 11a und b. *Bothrioplana*. Prophase (a) und Metaphase (b) der zweiten Furchungsteilung. Beachte die beiden Nukleolen auf dem frühen Stadium a und die paarweise Anordnung der Chromosomen. Mit Eintritt der Anaphase werden die Partner jedes Paares auf die Tochterzellen verteilt und dadurch gleichzeitig die Chromosomenzahl auf die Hälfte herabgesetzt.

die paarweise *nebeneinander* zum Kreis geschlossen liegen. Mit Eintritt in die Telophase, welche unter deutlicher Karyomeritenbildung erfolgt, vollzieht sich die *Furchung* der Keimzellen. Sie ist *äqual*, *die gebildeten vier Tochterzellen* („primäre Blastomeren“) liegen in geringem gegenseitigem Abstand im Dottersyncytium und *gleichen einander vollständig*. Der ganze Entwicklungsablauf nimmt bis zu dem 4-Blastomerenstadium bei Temperaturen von 12–15° rund 12 Stunden in Anspruch. Die Kerne der 4 primären Blastomeren enthalten je 2 Nukleolen, wogegen diejenigen der Keim- und Dotterzellen, sowie der Blastomeren aller höheren Furchungsstadien stets nur einen einzigen Nukleolus besitzen (Abb. 10a). Im Gegensatz zu allen weiteren Teilungsschritten geht das erste Ruhekerstadium (Interkineseruhekern) außerordentlich schnell in die Prophase der zweiten Furchungsteilung über; die Sphäre wird *nicht rückgebildet* (Abb. 10a) und aus dem Karyomeritenkern differenzieren sich von neuem die Chromosomen in der zu erwartenden doppelten Normalzahl. Sie ordnen sich (Abb. 11) *paarweise gruppiert* im Umkreis der Zentralspindel in der Äquatorialebene an, verkürzen sich dabei beträchtlich und erhalten ein mehr minder wurstförmiges Aussehen. *Eine neuerliche Längsspaltung findet nicht statt*, die Partner jedes Chromosomenpaares weichen vielmehr

ungespalten auseinander und führen so die bereits am Beginne der Anaphase der ersten Furchungsteilung mit der Ausbildung von Dyaden begonnene mitotische Teilung zu Ende. Dadurch wird die doppelte Chromosomenzahl der vier primären Blastomeren wiederum auf die Normalzahl gebracht, welche nunmehr durch alle kommenden Furchungsteilungen gleichmäßig beibehalten wird. Die Ruhekern des 8-Blastomerenstadiums sind Karyomerenkerne und besitzen ausnahmslos je einen einzigen Nukleolus (Abb. 10b).

Die Anordnung der nahe beieinander liegenden Blastomeren innerhalb des Dottersyncytiums erscheint bald ganz regellos, bald sind sie mehr oder weniger deutlich kreuzförmig gelagert; eine Sonderung in zwei getrennte Gruppen, entsprechend der Abstammung von zwei verschiedenen Eizellen besteht niemals, es liegt vielmehr ein Zustand vor, wie er für die Furchung aller Metamerata (einschließlich Tricladida!) als sog. „*Blastomerenanarchie*“ typisch ist.

In der Folge bilden, nach einer Reihe weiterer Teilungsschritte, einzelne Embryonalzellen eine die Dotterkugel umgebende *Hüllmembrane* die dem sog. „provisorischen Ektoderm“ der Tricladenentwicklung entspricht, während der Rest zu einem einzigen, länglichen Embryonalblastem zusammentritt, welches als ein Keimstreifen dem Dotter auflagert und die künftige Ventralseite des Embryo markiert. Unter der Hüllmembrane, die auf späterem Stadium wieder degeneriert, legt sich das definitive Körperepithel des jungen Wurmes an. Die weiteren Entwicklungsvorgänge ähneln weitgehend der Tricladenentwicklung und interessieren hier nicht, entscheidend ist nur, daß entsprechend der Anlage eines einzigen Embryonalblastems am Ende der Entwicklungszeit ($1\frac{1}{2}$ bis 2 Monate) jeweils ein *einziges Jungtier* die Eikapsel nach Abheben eines präformierten Deckelchens verläßt.

2. Chromosomenfeinbau.

Unsere allgemeinen Kenntnisse vom Chromosomenfeinbau haben im letzten Jahrzehnt eine beträchtliche Erweiterung und erfreuliche Klärung (vgl. u. a. GEITLER 1938) erfahren, ohne daß es dabei jedoch möglich war, alle noch bestehenden Unstimmigkeiten zwischen den einzelnen Auffassungen und Einzelbeobachtungen zu einem allgemein gültigen Bild zu vereinigen. Gesichert sind der submikroskopische Aufbau aus optischeinachsigen, negativ doppelbrechenden Mizellen, der Chromomerenbau der Chromonemata und deren mehr oder weniger weitgehende Spiralisierung. Umstritten in Deutung und Allgemeingültigkeit sind noch die unter dem Terminus „*Scheidenbau*“ zusammengefaßten Eigentümlichkeiten, wie sie in der Existenz einer eigenen Rindenschicht sowie einer zentralen, nach geeigneter Vorbehandlung „chromatischen“ Achse gegeben sind.

In den Chromosomen der ersten Furchungsteilungen von *Bothrioplana semperi* zeigen sich Strukturen, die weiteres Material zur Frage des Scheidenbaues liefern können. Man muß dabei von vorneherein zwischen vitalen und artifiziellen Merkmalen unterscheiden. Im Leben

sind die Beobachtungsbedingungen an unserem Objekt leider sehr ungünstig: Dotterreichtum, mechanische Schädigung beim Ausstreichen. Immerhin gelingt es bei hinreichendem Zeitaufwand die Keimzellen in frischen Kapselausstrichen zu finden und in günstigen Fällen auch etwas von den Chromosomen zu erkennen. Am geeignetsten dazu ist die erste Teilungsspindel, welche sich durch ein stärkeres Lichtbrechungsvermögen und bedeutendere Widerstandsfähigkeit gegenüber dem Deckglasdruck auszeichnet und so das Auffinden der Chromosomen erleichtert. Diese sind schwierig zu erkennen, glashell und gleichen gestaltlich den entsprechenden fixierten Stadien. Sie haben eine glatte Oberfläche, eine sehr undeutliche, schwächer lichtbrechende *Oberflächenschicht* oder Hülle und einen leicht opaken, geradegestreckten *Achsenfaden*. Die Chromosomenenden zeigen trübe Stellen. Anzeichen von Chromomeren, Chromonemata oder von Spiralstruktur sind nicht zu erkennen. Im polarisierten Licht ist von den lebenden Chromosomen nichts zu sehen; lediglich die positive *Doppelbrechung der Spindel* ist verhältnismäßig deutlich und bestätigt das von W. J. SCHMIDT (1939) an *Cerebratulus* und *Psammechinus* beobachtete optische Verhalten der Spindelfasern.

Ungleich eindrucksvoller sind die Strukturen fixierter und gefärbter Chromosomen. Sie wechseln zwar mit der Art der technischen Vorbehandlung, treten bei gleichartiger Technik jedoch so gesetzmäßig auf, daß sie als ein Ausdruck von tatsächlich vorhandenen strukturellen oder substanziellen Differenzierungen innerhalb der Chromosomen gelten müssen. Der in der Meta- und Anaphase der ersten meiotischen Teilung am leichtesten wahrnehmbare *Spiralbau der Chromosomen* ist bei *Bothrioplana* an den Prophase-Chromosomen der ersten Teilung nachzuweisen. Diese zeigen in Ausstrichen, die mit Sublimatgemischen fixiert worden waren, an Stelle der im Leben glatten Oberfläche höckerige Umrisse (Abb. 8a) so, als ob sie aus einzelnen Körnern zusammengesetzt wären, die einer glatten Achse aufsitzen. Mit Chromomerenstruktur hat das nichts zu tun, die eigentümliche Oberflächengestaltung ist vielmehr nichts anderes als der Ausdruck einer *Spiralisierung* des Chromosoms und kommt wahrscheinlich folgendermaßen zustande: Die Fixierung mit dem Schwermetallsalz bewirkt eine Schrumpfung der peripheren Chromosomen-schicht (Matrix), diese schmiegt sich der sonst aus optischen Gründen (gleiches Lichtbrechungsvermögen) unsichtbaren Chromonemaspirale dicht an und läßt dadurch das Relief der Spirale hervortreten. Die Spiralenwindungen erscheinen im durchfallenden Licht dann jeweils als vorragende Höcker.

Eine enggewinkelte Glasspirale, die man mit erwärmter, dickflüssiger Gelatine überzogen hat, stellt ein brauchbares Modell dar! Im frischen Zustand ist die Oberfläche glatt, nach dem Austrocknen (Ersatz für die Wirkung des Fixierens) tritt das Relief der Glasspirale hervor.

Das distale Chromosomenende ist abgerundet, das proximale trägt ein gestieltes Knöpfchen (Abb. 12c, d, e₁, e₂). Dieses entspricht zweifellos — die *Bothrioplana*-Chromosomen sind telomitisch — dem vielfach mit einem

Leitkörperchen verwechselten, rudimentären zweiten Chromosomenarm. Das Innere der Chromonemaspirale (eine „Großspirale“ im Sinne von DARLINGTON) wird von einem schwach färbbaren *Achsenfaden* (Abb. 12c₁, e₂) durchzogen, welcher den Verbindungsstiel zwischen dem großen und dem rudimentären Chromosomenarm bildet. Das *Bothrioplana*-Chromosom entspricht mithin der HEITZschen Auffassung (1928) von der grundsätzlichen Zweiarmigkeit der Chromosomen und erinnert lebhaft an die Verhältnisse bei manchen Orthopteren (WHITE 1935). Der knopfförmige Kleinarm ist übrigens nur bei gestreckter Chromosomenform sichtbar; bei den gedrunken-bohnenförmigen Chromosomen des späteren Mitoseablaufes (vgl. S. 545) ist er mit dem Großarm so innig vereinigt, daß er nicht mehr als abgesetztes Körperchen hervortritt. K.E.S.-Präparate bestätigen im wesentlichen das Gesagte. Groß- und Kleinarm, Achsenfaden und Scheidenbau sind immer mehr oder minder deutlich wahrzunehmen; von einem *Spiralbau* ist jedoch an unversehrten Chromosomen nichts zu sehen. Nichtsdestoweniger ist dieser jedoch vorhanden, wie sich aus dem Verhalten von Chromosomen ergibt, die beim Ausstreichen mechanisch in die Länge gezogen worden sind. In diesen Fällen (Abb. 12a, b) tritt uns an frischen Präparaten in dem unnatürlich gezerzten Chromosom nicht

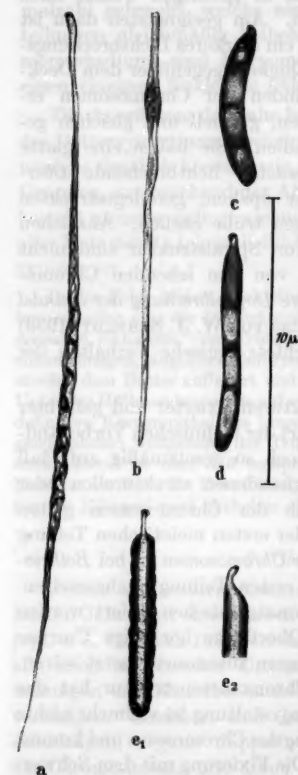


Abb. 12a—e₂. *Bothrioplana*. Chromosomenfeinbau. a—d, e, K.E.S.-Methode; e₁, Sublimat-Hämatoxylin. Nähere Erklärung im Text.

selten ein deutlicher, in der Mitte zuweilen unterbrochener *Spiralfaden* entgegen, welcher zweifellos einer auseinandergezogenen Chromonemaspirale entspricht. Im mittleren Chromosomenabschnitt erscheint die Spirale einfach, gegen die Chromosomenenden zu sind meist zwei getrennte Chromonemata zu erkennen. Die Deutung kann der Beobachtung von KUWADA und NAKAMURA (1935) folgen: Es liegen getrennte, *ineinander-*

geschobene Großspiralen (Dyadenchromonemata) vor, welche sich in den Endabschnitten des Chromosoms bereits voneinander gelöst haben. *Chromomeren* sind an oder in den gezerzten Chromonemaspiralen *nicht* nachzuweisen. Neben den unversehrten Chromosomen mit deutlichem Scheidenbau findet man in den K.E.S.-Präparaten gelegentlich auch Chromosomen von ganz abweichender Struktur (Abb. 12c, d). Sie weisen keinen Scheidenbau auf, zeigen keinerlei Anzeichen von Spiralisierung und

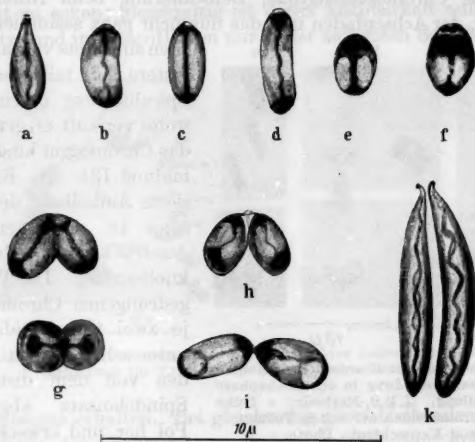


Abb. 13a—k. *Bothrioplana*. Chromosomenfeinbau. K.E.S.-Methode; nähere Erklärung im Text.

zeichnen sich durch das Vorhandensein von mehreren ovalen, hellen Flecken (Vakuolen?) innerhalb des sonst homogen färbbaren Chromosomenkörpers aus. Ich deute diese Bilder *als Artefakte*, als Mazerations- oder Entmischungserscheinungen in der Folge von postmortalen Veränderungen der Chromosomen. Eine geringfügige Verzögerung im Zutritt der K.E.S. beim Anfertigen der Präparate, ungünstige mechanische Wirkungen beim Sprengen der Kapselschale u. dgl. sind an sich unkontrollierbare Faktoren, mit denen immer gerechnet werden muß. Damit wird natürlich die Möglichkeit keineswegs ausgeschlossen, daß die meist regelmäßige Zahl und Anordnung der erwähnten Entmischungsvakuolen durch irgendwelche strukturellen Besonderheiten des intakten Chromosoms bedingt sein kann.

Während der ersten Anaphase und der Restitutionskernbildung nehmen die bisher stäbchenförmigen Chromosomen eine gedrungene birn- oder bohnenförmige Gestalt an und spalten sich erneut in je zwei Chromatiden unter sehr eigentümlichen strukturellen Erscheinungen. Diese sind nur an K.E.S.-Präparaten gut zu beobachten; mit anderer Methodik

dargestellte Chromosomen färben sich so intensiv, daß keinerlei Intimstrukturen festzustellen sind. Am Beginn der Verkürzung sind die Chromosomen größtenteils birnförmig (Abb. 13a); das spitze Ende trägt ein stark färbbares Knöpfchen, welches dem Kurzarm des Chromosoms entspricht. Das ganze Gebilde wird von einem stärker färbbaren Achsenfaden durchzogen, der schneckenförmig gewunden (Spiralstruktur!) erscheint. Das Aussehen der maximal verkürzten Chromosomen wechselt etwas (verschiedene Chromosomengröße, Deformierung beim Anfertigen des Präparates); der Achsenfaden und das nunmehr ganz assimilierte Knöpfchen sind stets vorhanden. Der

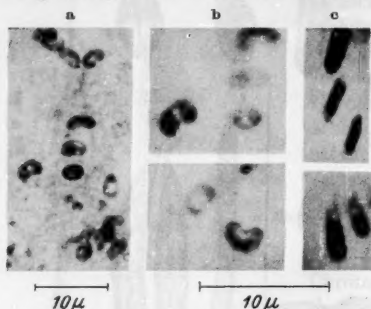


Abb. 14a—c. *Bothrioplana*. Chromosomenfeinbau. a und b Chromatidenbildung in der I. Anaphase der ersten Teilung, K.E.S.-Methode; c frühe Prophase-Chromosomen der ersten Teilung, Sublimat-Kernechtrot. Photo.

ersten läßt teilweise noch die Spiralisierung erkennen, teilweise verläuft er gerade durch das Chromosom hindurch (Abbildung 13b—f). Eine lokalisierte Aufhellung des Chromosoms ist möglicherweise der Ausdruck einer teilweisen Vakuolisierung. Die Teilung der gedrunghenen Chromosomen in je zwei Chromatiden erfolgt unter sehr raschem Einschneiden von dem distalen (dem Spindelanatz abgewandten) Pol her und erweckt vielfach das irrige Bild einer Quer-

teilung. Davon ist in Wirklichkeit keine Rede! Die außerordentlich starke Stauchung des Chromosomenkörpers in Richtung der Längsachse hat lediglich die mechanischen Grundlagen der Längsspaltung so weitgehend verändert, daß der ganze Prozeß in etwas ungewohnter Form abläuft. Gerade das Verhalten des Achsenfadens und die immer erhaltene Polarität des Chromosoms zeigen klar, daß es sich um eine eindeutige Längsteilung handelt (Abb. 13g—i, 14a, b). An Präparaten, die nicht mit der K.E.S.-Methode gewonnen sind und deshalb nichts von der inneren Chromosomenstruktur erkennen lassen, erhält man den Eindruck von einer queren Durchschnürung häkchenförmig abgebogener Chromosomen. Nach vollzogener Längsspaltung bleiben die Chromatiden an ihrem Kurzarmpol miteinander verbunden; während des endgültigen Auseinanderweichens gegen die Spindelpole strecken sie sich und nehmen dann, gleichzeitig mit ihrer endgültigen Trennung, eine den Prophase-Chromosomen ähnliche Gestalt (Abb. 13k) an. Der Achsenfaden zeigt bei diesen Stadien deutliche Spiralisierung.

Welche allgemeineren Gesichtspunkte ergeben sich aus diesen Befunden? Sie bestätigen unsere Auffassung von der grundsätzlichen

Zweiarmigkeit der telomitischen *Bothrioplana*-Chromosomen und sie lassen uns in dem Achsenfaden einen konstanten Bestandteil des Chromosoms erkennen. Das verschiedene färberische Verhalten des Achsenfadens in den Prophasechromosomen einerseits und in den Metaphasechromosomen andererseits darf uns darin nicht irre machen: es ist nicht so sehr die Achsensubstanz, als vielmehr „Matrix“ und Chromonemaspirale, welche sich verschieden verhalten. In den gedrungenen Stadien sind diese Gebilde nicht zu sehen; gleichzeitig ist deren Färbbarkeit außerordentlich herabgesetzt und im wesentlichen nur in der äußersten Schichte (Matrix?)



Abb. 15. *Bothrioplana*. Chromosomenfeinbau: verzweigter Achsenfaden. K.E.S.-Methode, Erklärung im Text. Links Photo, rechts Zeichnung.

des Chromosoms erhalten. Bei gleichzeitig gleichbleibender Färbbarkeit der innerhalb des Chromonemazyinders befindlichen Achsensubstanz wird diese dann ganz von selbst als stärker tingierter Strang zu sehen sein. Die *Spiralisierung des Achsenfadens* ist sicherlich nichts weiter als eine Folge der, uns jetzt direkt ja nicht sichtbaren, Spiralisierung der Chromonemata, deren Kontur er ja folgen muß, und damit ein indirekter Beweis für die uns sonst verborgene Spiralstruktur der Chromosomen während der fraglichen mitotischen Phasen.

Abweichende Chromosomenstrukturen beobachtet man schließlich auch während der Prophase des zweiten Teilungsschrittes. Die wurstförmigen, in der doppelten Normalzahl vorhandenen Chromosomen nehmen vorübergehend (ob immer, ist fraglich) ein gestreckt birnförmiges Aussehen an (Abb. 8e, Abb. 15) und zeichnen sich durch die Verästelung ihres Achsenfadens aus. Mit normaler Spiralstruktur sind diese Bilder gar nicht in Einklang zu bringen; vielleicht sind es Artefakte, befriedigend erklären kann ich sie nicht. Die Chromosomen höherer Furchungsstadien gleichen im wesentlichen den Prophasechromosomen der ersten Teilung; abweichende Strukturverhältnisse sind bei ihnen nicht festzustellen. Zusammenfassend ergibt sich aus dem Gesagten, daß die ersten beiden Furchungsteilungen nicht nur durch ihren abweichenden Chromosomenformwechsel, sondern auch durch

Besonderheiten im Chromosomenfeinbau gegenüber allen anderen Bothrioplana-Mitosen ausgezeichnet sind.

III. Theoretische Auswertung.

Die Fortpflanzungsbiologie von *Bothrioplana semperi* BRAUN ist nach unseren Feststellungen durch folgende Tatsachen gekennzeichnet:

1. Die Fortpflanzung erfolgt ausschließlich parthenogenetisch.
2. Die Abkömmlinge je zweier Eizellen bilden einen einzigen Embryo (Dioogonie).
3. Die beiden ersten Teilungsschritte vollziehen sich mit auffallendem Chromosomenformwechsel.

Chromosomenformwechsel und Parthenogenesis können nur dann richtig gewertet werden, wenn die Chromosomenzahlen ihrer Bedeutung nach klargestellt sind, d. h. wenn entschieden werden kann, ob die entwickelte *Bothrioplana* ein *Haplont* oder ein *Diplont* ist. Der regelmäßige Wechsel zwischen Garnituren von 20 und solchen von 40 Chromosomen kann ja den Gedanken nahelegen, daß bei unserer Form ein Fall von haploider Parthenogenesis vorliegt, der durch eine vorübergehende Aufregulierung zur Diplophase kompliziert wird. Das ist aus folgendem Grund unrichtig: Einzelne *Bothrioplana*-Individuen entwickeln, wie oben auseinandergesetzt wurde (vgl. auch VEJDOVSKY 1895 und v. HOFSTEN 1907), einen männlichen, allerdings funktionslosen Geschlechtsapparat. In den Hoden solcher Individuen kann es zur Spermatogenese kommen, wobei es gelingt, Reifeteilungen zu beobachten und die Chromosomenverhältnisse festzustellen. Hierbei kann man in denjenigen Fällen, in denen die Samenbildung nicht von vorneherein stark degenerativ verändert abläuft, das Auftreten von Spermatocyten mit 10 Chromosomen (8 große, 2 Kleinchromosomen) beobachten. VEJDOVSKY hat bereits 1895 diesen Tatbestand klar erkannt und abgebildet (Taf. IX, Fig. 44). Daß er die Kleinchromosomen dabei übersehen hat, ist bei der geringen Größe und engen Lagerung der Chromosomen verständlich. In der Folge wird ein Teil des Chromatins der Spermatiden auf eine noch ungeklärte Weise mit etwas Plasma ausgestoßen, so daß die fertigen Spermien *oligopyren* sind. Auch das hat VEJDOVSKY (1895, S. 194) bereits gesehen; die „sehr kleinen Zellen . . ., in deren Kernen . . . zwei bis drei Chromatinfäden eingebettet sind“, sind mit den abgestoßenen Spermatidentellen zu identifizieren. Mit diesen Feststellungen ist die oben gestellte Frage klar zu beantworten: *Bothrioplana semperi* BRAUN ist ein normaler *Diplont*; in der Haplophase sind 10, in der Diplophase 20 Chromosomen vorhanden! Der zu Beginn der Embryonalentwicklung ablaufende Zahlenwechsel erfolgt mithin zwischen dem diploiden und einem tetraploiden Zustand. Mit diesem ganz eindeutigen Tatbestand ist gleichzeitig der Schlüssel zur Deutung des vorliegenden Falles gegeben. In der frisch gebildeten Eikapsel, in der sich bei Turbellarien mit amphimiktischer Fortpflanzung die

Keimzellen nach der Besamung zur ersten Reifungsteilung anschicken, finden wir auch bei *Bothrioplana* Veränderungen, die von einer normalen Mitose abweichen und an *meiotische* Phänomene erinnern. Es sind das: frühzeitige Spaltung, Dyadenbildung und anormale Chromosomenform. Nehmen wir an, daß einer normalen ersten Reifeteilung eine überzählige, unvollendete Teilung vorangeht und daß sich diese Teilungsschritte ineinanderschieben, dann erhalten wir einen abnormen Chromosomenformwechsel, wie er bei *Bothrioplana* verwirklicht ist, und gleichzeitig

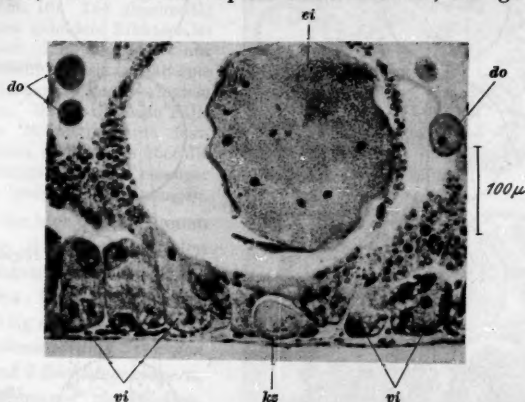


Abb. 16. *Bothrioplana*. Prophase einer ersten Teilung im Keimstock. *do* überschüssige Dotterzellen im Darm (Funktion des Ductus genito-intestinalis); *ei* Anschnitt der Eikapsel; *ks* Keimzelle, Prophase; *vi* Dotterstock. Kernechtrot-Mallory, Photo.

Tetraploidie. Bei einer normalen Meiose werden die Chromatiden jeder Tetrade durch die beiden Reifeteilungen in der bekannten Weise auf die vier Gameten verteilt und so der haploide Zustand hergestellt. Die *Zahlenreduktion* tritt dabei erst in der zweiten Reifeteilung in Erscheinung, gleichgültig, ob Präreduktion, Postreduktion oder ein Mischtyp vorliegt. Prinzipiell dasselbe erfolgt auch bei *Bothrioplana*, nur mit dem Unterschied, daß die Zahlenreduktion von einer Tetrphase zur Diplophase führt. Der diploide Normalzustand wird dabei *trotz ungekürzter Eireifung* durch eine prospektiv-regulatorische Chromosomenverdoppelung (den über zähligen Teilungsanfang) am Beginn der ersten Reifungsteilung garantiert und damit gewissermaßen der fehlende haploide Chromosomensatz des Spermiums ersetzt. Ob in der fraglichen Chromosomenverdoppelung ein automiktischer Vorgang gesehen werden kann, ist derzeit nicht zu entscheiden; diese Frage ist auch ganz unwesentlich gegenüber der Erkenntnis, daß keinerlei Bedenken bestehen, die beiden ersten Teilungsschritte der *Bothrioplana*-Keimzellen mit den beiden Reifeteilungen der normalen Oogenese zu homologisieren. Der Chromosomenformwechsel

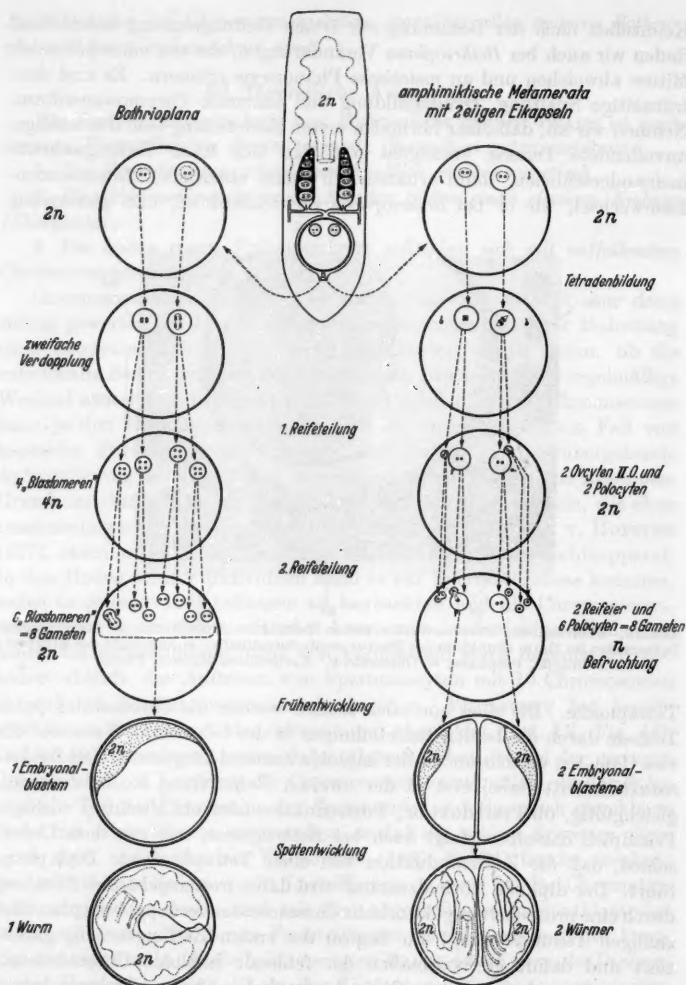


Abb. 17. Schema zur Veranschaulichung der Beziehungen zwischen der *Diögonie* von *Bothrioplana* und der normalen Entwicklung einer leithophoren Turbellarie mit zweieiigen Kapseln.

zu Beginn dieser Teilungen, das Ineinanderschieben zweier Mitosen sowie die gesetzmäßige Verringerung der Chromosomenzahl auf die

Hälfte beim zweiten Teilungsschritt begründen diese Homologisierung. Die Chromosomenpaarung und die Trennung der Paarlinge während der normalen Meiose werden vielleicht durch den überzähligen Teilungsschritt in der Prophase der ersten Furchungsteilung vertreten.

In diesem Zusammenhang ist es von Interesse, daß es Fälle gibt, in denen die Prophase der ersten Teilung bereits innerhalb des mütterlichen Keimstockes abläuft (Abb. 16). Die gleichzeitig im Atrium gebildete Eikapsel ist dann taub (d. h. umschließt nur Dotterzellen) oder sie enthält eine einzige Keimzelle von normalem Aussehen. Da man solche Fälle erst am Schnittpräparat feststellen kann, so läßt sich über die Entwicklungsfähigkeit eineiiger Kapseln leider nichts aussagen.

Bei der hier vorgetragenen Deutung der ersten beiden Furchungsteilungen des *Bothrioplana*-Eies entsprechen folgerichtig die „Blastomeren“ des 4-Zellenstadiums 2 Oocyten, II. O. und 2 Richtungskörpern, die „Blastomeren“ des 8-Zellenstadiums den beiden Reifeiern und den 6 Richtungskörpern einer normalen zweieiigen Turbellarien-Eikapsel auf den entsprechenden Entwicklungsstadien. Abb. 17 soll diese Beziehungen in schematischer Form besonders verdeutlichen.

Die Natur der Polocyten, als den Eiern völlig gleichwertige, abortive Gameten, erfährt damit eine neue, sehr eindrucksvolle Beleuchtung. Es ist vielleicht kein Zufall, daß die gelegentliche Ausbildung befruchtungs- und entwicklungsfähiger Richtungskörper gerade bei Turbellarien schon mehrfach (FRANCOTTE 1897; WILSON 1925) festgestellt worden ist. Da es 8 Gameten sind, die sich als gleichwertige Abkömmlinge zweier Oogonien am Aufbau eines einzigen Embryo beteiligen, so könnte man die Dioogonie von *Bothrioplana* letzten Endes auch als eine „parthenogenetische Oktogametogenesis“ bezeichnen.

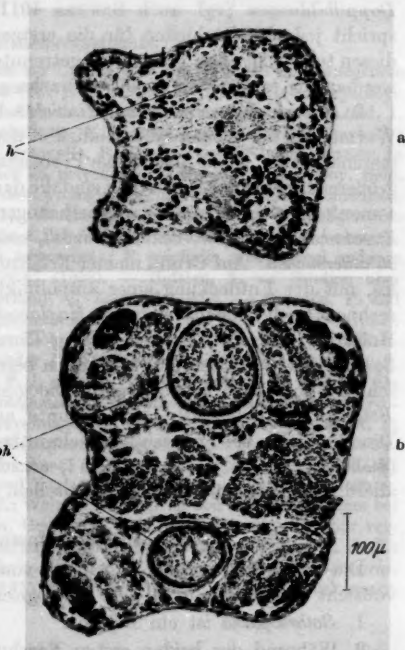


Abb. 18a und b. *Bothrioplana*. Querschnitte durch eine bis zur Geschlechtsreife aufgezogene Doppelbildung um die Vollständigkeit der beiden Partner zu veranschaulichen. a Kopfregion; b Körpermitte; h Gehirne; ph Pharynxen.
Hämatoxylin-Eosin, Photo.

Ob sich die parthenogenetische Dioogonie von *Bothrioplana* aus einer amphimiktischen Dioogonie entwickelt hat oder ob sie erst auf Grund von parthenogenetischer Entwicklungsfähigkeit der Eier und Polocyten entstanden ist, erscheint auf den ersten Blick kaum zu entscheiden. Das recht häufige Auftreten von dorsal verwachsenen, symmetrischen *Doppelbildungen* (vgl. auch SEKERA 1911) bei *Bothrioplana* (Abb. 18), spricht jedoch entschieden für die erstgenannte Möglichkeit, zumal in diesen teratologischen Fällen zwei getrennte Embryonalblastome angelegt werden, die erst später dorsal verwachsen.

In *entwicklungsmechanischer Hinsicht* scheint mir die Dioogonie unseres Wurmes bei der großen Selbständigkeit der Furchungszellen bei „Blastomerenanarchie“ keine allzu große Problematik zu eröffnen. Von ungleich größerer allgemeiner Bedeutung sind die dargestellten Fragen des Chromosomenformwechsels und der Parthenogenese. *Es erschiene in diesem Zusammenhang außerordentlich reizvoll, amphimiktische Bothrioplana-Eier zu untersuchen.* Auf Grund meiner Erfahrungen halte ich es für aussichtslos, mit der Entdeckung einer amphimiktischen Rasse dieses Tieres zu rechnen; nach Beobachtungen an *Haplovortex* besteht jedoch vielleicht die Hoffnung, auf experimentellem Weg Tiere mit reaktivierter männlicher Sexualität zu erhalten und mit diesen befruchtete Eier zu erzielen. Aufschlüsse über den *Weg*, auf dem die Dioogonie und die Parthenogenese bei *Bothrioplana* entstanden sind, könnte auch die Entdeckung weiterer Dioogoniefälle bei anderen Plathelminthen bringen. Ob solche Funde (vielleicht bei Kalyptrorhynchiern?) ernstlich zu erwarten sind, das ist allerdings derzeit noch nicht abzusehen.

Zusammenfassung.

Die parthenogenetische Dioogonie von *Bothrioplana semperi* BRAUN vollzieht sich unter folgenden cytologischen Erscheinungen:

1. *Bothrioplana* ist ein Diplont.
2. Während der beiden ersten Furchungsteilungen erfolgt Chromosomenformwechsel.
3. Dieser äußert sich in meiotischen Phänomenen, Tetraploidie und nachfolgender Chromosomenreduktion.
4. Die Chromosomen von *Bothrioplana* sind telomitisch mit rudimentärem Kurzarm.
5. Spiralbau und Scheidenbau der Chromosomen konnten in verschiedenen Phasen nachgewiesen werden.
6. Die Chromosomen der beiden ersten Teilungen zeigen strukturelle Besonderheiten.

Daraus ergeben sich folgende Schlüsse:

- A. Die beiden ersten Furchungsteilungen entsprechen den Reifeteilungen der normalen Oogenese.

B. Die „Blastomeren“ des 8-Zellenstadiums entsprechen 2 Reifeiern und 6 Richtungskörpern, sind also eigentlich Gameten.

C. Die Dioogonie von *Bothrioplana* ist demnach eine parthenogenetische Oktogametogenese.

Schriftenverzeichnis.

- Ankel, W. E.: Neuere Arbeiten zur Cytologie der natürlichen Parthenogenese der Tiere. Z. Abstammungslehre 45 (1927); 52 (1929). — Böhr, K.: Die cytologischen Grundlagen der Vererbung. Handbuch der Vererbungswissenschaft, Bd. 1. Berlin 1928. — Bresslau, E.: Turbellaria. Kükenthal-Krumbachs Handbuch der Zoologie, Bd. 2. Leipzig 1933. — Francotte, P.: Recherches sur la maturation, la fécondation et la segmentation chez les polyclades. Mém. cour. Acad. Roy. Belg. 55 (1897). — Geitler, L.: Grundriß der Cytologie. Berlin 1934. — Chromosomenbau. Protoplasma-Monographien, Bd. 14. Berlin 1938. — Hartmann, M.: Allgemeine Biologie. Jena 1925 u. 1927. — Heitz, E.: Der bilaterale Bau der Geschlechtschromosomen und Autosomen bei *Pellia fabbriana*, *P. epiphylla* und einigen anderen Jungermanniaceen. Planta (Berl.) 47 (1938). — Hofsten, N. v.: Studien über Turbellarien aus dem Berner Oberland. Z. Zool. 80 (1907). — Kuwada, Y. and T. Nakamura: Behaviour of chromonemata in mitosis. IV and VI. Cytology 6 (1935). — Reislinger, E.: Turbellaria. P. Schulzes Biologie der Tiere Deutschlands. Berlin 1923. — Untersuchungen am Nervensystem der *Bothrioplana semperi* Braun. Z. Morph. u. Ökol. Tiere 5 (1926). — Schiwago, P. J. u. L. S. Peschkowskaja: Zum Problem des Verhaltens des Karyotyps in der Ontogenese. I. Karyologische Studien am embryonalen Vogelsoma. Genetica ('s-Gravenhage) 18 (1936). — Schiwago, P. J., N. E. Goldrin u. S. A. Wolchow: II. Veränderungen des Karyotyps in somatischen Geweben der erwachsenen Brieftaube. Arch. Anat. (russ.) 17 (1937). — Schmidt, W. J.: Doppelbrechung der Kernspindel und Zugfasertheorie der Chromosomenbewegung. Chromosoma 1 (1939). — Sekera, E.: Weitere Beiträge zu den Doppelbildungen bei den Turbellarien. Sitzgsber. böhm. Ges. Wiss. 1911. — Vedjovsky, F.: Zur vergleichenden Anatomie der Turbellarien. Z. Zool. 60 (1895). — White, M. J. D.: The effects of X-rays in mitosis in the spermatogonial divisions of *Locusta migratoria*. Proc. roy. Soc. Lond. Ser. B. 119 (1935). — Wilson, E. B.: The cell in development and heredity. New York 1925.

TEMPERATURBEDINGTE AUSBILDUNG VON SPEZIALSEGMENTEN AN CHROMOSOMENENDEN.

Von

LOTHAR GEITLER, Wien.

Mit 3 Textabbildungen (14 Einzelbildern).

(Eingegangen am 25. Juni 1940.)

Vor kurzem beschrieben DARLINGTON und LA COUR bei *Paris polyphylla* eine bisher unbekannte Ausbildung der Enden mitotischer Chromosomen. Solche „special segments“ erscheinen schmaler und schwächer färbbar als der übrige Chromosomenkörper, die Chromonemaschraube ist in ihnen dünner und anders gewickelt; sie erscheinen nur nach Vorbehandlung mit Salpetersäuredämpfen und auch dann nicht immer in typischer Ausbildung; nach gewöhnlicher Fixierung unterscheiden sie sich nicht vom übrigen Chromosomenkörper. Es handelt sich also nicht um eine an sich konstante Ausbildung der Chromosomenenden, sondern um eine konstante *Reaktionsverschiedenheit*. Diese Reaktionseigentümlichkeit zeigen nur die längeren Arme; die Länge der Spezialsegmente verhält sich ungefähr proportional zur Armlänge.

Eine Untersuchung von *Adoxa moschatellina* ergab auch bei dieser Pflanze das Vorhandensein von Spezialsegmenten. Die im Vergleich mit *Paris* geringere Chromosomengröße und die hohe Chromosomenzahl ($n = 18$) erlauben keine sichere Erkennung der Spiralisierung und eindeutige Identifizierung bestimmter Chromosomenenden, so daß in dieser Hinsicht nicht über DARLINGTONs und LA COURs Angaben hinausgegangen werden kann; dagegen lassen sich in anderer Beziehung weitere Einblicke gewinnen.

Zur Untersuchung gelangten hauptsächlich Pflanzen verschiedener Kolonien aus der Umgebung der Biologischen Station Lunz; vergleichsweise wurden im Wiener Botanischen Garten kultivierte Exemplare, die aus dem Prater stammten, untersucht. Entsprechend den ungünstigen klimatischen Verhältnissen des Frühjahrs 1940 waren die Lunzer Pflanzen in der ersten Aprilhälfte noch wenig entwickelt; in den ältesten Blütenknospen lief eben die 1. Pollenkornmitose ab, die meisten Knospen standen noch vor der Meiose.

Während der Untersuchungszeit in Lunz konnten Mitosen in Pflanzen beobachtet werden, die unter den verschiedensten Bedingungen standen. Die Pflanzen waren bald von Neuschnee überdeckt — die Lufttemperatur betrug dabei minus 2°C —, bald standen sie bei Temperaturen von plus 5 – 10° frei im Regen oder in der Sonne. *In den Mitosen der „Kältepflanzen“, die bei etwa minus 2° bis plus 2° untersucht wurden, und nur in diesen, zeigten sich die Spezialsegmente.* Sie wurden in allen untersuchten Teilen, nämlich in den Blütenhüllblättern, der Antherenwand, dem

Tapetum, den Samenanlagen, der Wurzelspitze, den Pollenkörnern und auch in der Meiose der Pollenmutterzellen festgestellt.

Das Aussehen der Spezialsegmente ist aus den Abb. 1—3 ersichtlich. Sie sind, im Gegensatz zu DARLINGTON¹ und LA COUR² Befunden, nach jeder gewöhnlichen Fixierung sichtbar, so nach Alkohol-Eisessig, Essigkarmin allein, Flemming und Flemming-Benda. Besonders letzteres Verhalten spricht dafür, daß sie bereits im Leben ausgebildet sind, also kein — wenn auch spezifisches — Fixierungsartefakt darstellen; eine unmittelbare Entscheidung war allerdings nicht möglich. Die Fixierungswirkung macht sich nur insofern bemerkbar, als die die Matrix erhaltenden Osmiumgemische die Spezialsegmente undeutlicher hervortreten lassen, während die den Chromonemabau verdeutlichenden Mittel, wie Essigkarmin, sie besonders klar machen. Behandlung mit HNO_3 -Dampf erwies sich bei diesem Objekt als unanwendbar, da die Chromosomen teils völlig zerstört, teils nicht beeinflusst wurden.

Ob bestimmte Chromosomenenden bestimmte Spezialsegmente besitzen, wie DARLINGTON und LA COUR für *Paris* nachgewiesen haben, ist nicht ganz sicher entscheidbar; es muß dies aber angenommen werden, da gewisse Bilder immer wiederkehren: so sieht man in den Mitosen ein Chromosomenpaar, aber nie mehr, mit besonders langem Spezialsegment am einen Arm (Abb. 1a), und es läßt sich oft ein Paar kleinerer ungleicharmer Chromosomen erkennen, deren langer Arm ein kürzeres Spezialsegment als der kurze Arm besitzt (Abb. 1e). Es zeigt sich hiebei, daß im Gegensatz zu *Paris* bei *Adoxa* keine engere Proportionalität zwischen der Länge der Arme und der der Spezialsegmente besteht. Eine gewisse Beziehung dürfte nur insofern vorhanden sein, als die winzigen kurzen Arme einiger scheinbar einarmiger Chromosomen keine Spezialsegmente ausbilden; doch besitzen auch einige lange Arme keine Spezialsegmente. Im ganzen sind die segmentlosen Arme stark in der Minderzahl.

Die kleinsten Spezialsegmente erscheinen als Zuspitzung des Chromosomenendes oder als wenig auffallende „Knöpfchen“, die auf den ersten Blick hin für Trabanten gehalten werden können. Sie unterscheiden sich jedoch von diesen eindeutig dadurch, daß sie ohne Faden abgesetzt sind und daß sie bei Fixierung mit Alkohol-Eisessig und unmittelbarer Untersuchung in Essigkarmin praktisch ungefärbt sind. Das gleiche gilt auch für die großen und größten Spezialsegmente und ist deshalb auffallend, weil die Dicke der Spezialsegmente die der kleinen, in den gleichen Mitosen deutlich gefärbten Trabanten übertrifft. Kurze Spezialsegmente machen besonders dann, wenn in der Metaphase die Chromatiden nicht deutlich erkennbar sind, den Eindruck endständiger Nukleolen (Abb. 1b unten¹).

¹ Es bliebe zu untersuchen, ob nicht MATSUURA³ Angaben über endständige Nukleolen bei *Trillium* auf einer Verwechslung mit Spezialsegmenten beruhen; dies um so mehr, als sich *Trillium* ökologisch ähnlich wie *Paris* und *Adoxa* verhält, so daß eine entsprechende Temperaturwirkung nicht ausgeschlossen ist.

Mit Alkohol-Eisessig fixiertes, in Alkohol aufbewahrtes und später mit Essigkarmin behandeltes Material ergibt eine „normale“ Färbung der Spezialsegmente. Ebenso erweisen sie sich bei *Feulgen*färbung von in Alkohol-Eisessig oder Flemming fixiertem Material als nukleal und sind gleich stark wie der übrige Chromosomenkörper gefärbt.

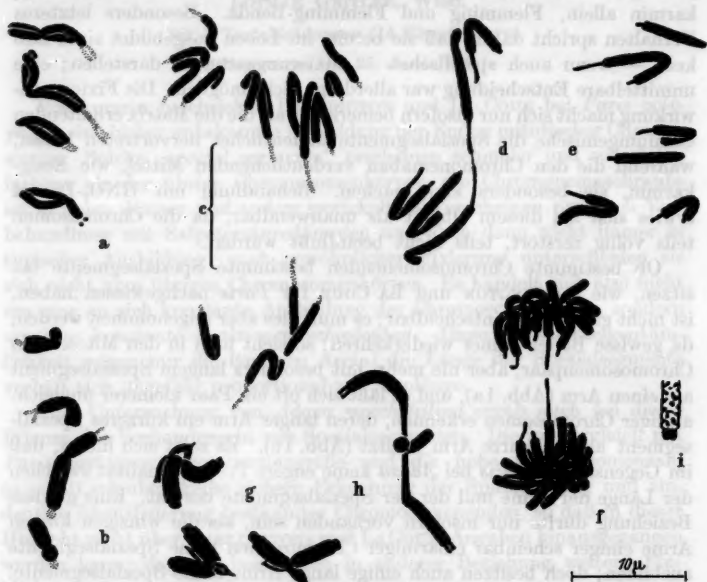


Abb. 1 a-i. *Adoxa moschatellina*, Kältepflanzen. a-f Chromosomen aus somatischen Meta- und Anaphasen mit Spezialsegmenten (in e unten links ein charakteristisches Chromosom mit langem Spezialsegment am kurzen Arm und kurzem am langen Arm); g, h I, meiotische Metaphase; i ebenso, Ende eines vakuolisierten Chromosoms mit homogenem, ungefärbtem Spezialsegment (schematisch schwarz dargestellt). — f Alk.-Eis., Nuklealquetschmethode, die anderen Alk.-Eis., Essigkarmin; die Chromosomen in b sind etwas gequollen; in a-c wurde die Farblosigkeit der Spezialsegmente durch Punktierung angedeutet.

An den heterotypischen Chromosomen erscheinen die Spezialsegmente kürzer und dicker als in der Mitose (Abb. 1g, h). In Chromosomen, die vakuolisiert sind, bleibt die Vakuolisierung in den Spezialsegmenten aus (Abb. 1i), wie schon DARLINGTON und LA COUR für die mitotischen Chromosomen festgestellt haben; die Färbung der Spezialsegmente ist dann sehr schwach.

Das Ausbleiben der Vakuolisierung wie das abweichende Färbeverhalten gegenüber Essigkarmin scheinen zu zeigen, daß sich die Spezialsegmente in bezug auf die Matrix anders als der übrige Chromosomenkörper verhalten; vielleicht ist eben dies der Grund, weshalb die Spiralisierung in ihnen abweichend erfolgt.

Im Lepto- und Pachytänstadium sind die Spezialsegmente nicht erkennbar. Obwohl die Verhältnisse an sich wenig günstig liegen, lassen sich doch an Kernen, die in Essigkarmin gequetscht wurden, freie Chromosomenenden so gut beobachten, daß eine auffallend abweichende Struktur an ihnen kaum übersehen werden könnte; ob der Chromomerenbau feinere Abweichungen aufweist, läßt sich allerdings nicht feststellen.

Wie früher erwähnt, ist bei *Adoxa* die Spiralisierung nicht unmittelbar zu erkennen. In manchen Spezialsegmenten auftretende periodische dunklere Stellen lassen die Spiralen höchstens ahnen. Bei unvoreingenommener Betrachtung erscheinen die Spezialsegmente an Chromosomen, deren Spiralen erkennbar sind, homogen, und die Chromatidenspiralen scheinen genau am Beginn des Spezialsegments aufzuhören. Da aber im übrigen Übereinstimmung mit dem Aussehen bei *Paris* herrscht, muß auch für *Adoxa* als wesentliches Merkmal der Spezialsegmente die abweichende Spiralisierung angenommen und die Unsichtbarkeit der Spiralen auf die geringere Chromosomengröße geschoben werden.

Es ist nach allem kein Grund zu RESENDES Ansicht vorhanden, daß die Spezialsegmente von *Paris* bekannte Trabanten wären, was übrigens schon in Anbetracht ihrer Anzahl unhaltbar ist. Bei *Adoxa* lassen sich die Trabanten — es sind vier SAT-Chromosomenpaare vorhanden — sicher daran erkennen, daß sie deutlich abgesetzte, kugelige Körper sind. Der Trantenfaden ist viel dünner als die Spezialsegmente und ist meist überhaupt nicht sichtbar; nach Alkohol-Eisessig- und Flemmingfixierung erscheint er anukleal, während die Spezialsegmente deutlich gefärbt sind¹. Ein weiterer Unterschied besteht darin, daß die Spezialsegmente nur in Kältepflanzen, die Trabanten aber immer vorhanden sind.

Um die anscheinende Temperaturbedingtheit der Ausbildung von Spezialsegmenten sicherzustellen, wurden einige Versuche mit Lunzer Pflanzen ausgeführt. Zur Untersuchung kamen die Mitosen, die in den Blütenhüllblättern ablaufen; ihre Präparation erfordert die wenigste Zeit, da sie in toto in Alkohol-Eisessig fixiert und in Essigkarmin untersucht werden können; auch sind die Chromosomen und die gesamten Teilungsfiguren etwas größer als in eigentlichen Meristemen. Die Pflanzen lassen sich leicht ohne nennenswerte Beschädigung des Wurzelsystems aus der Erde ziehen und in Wasser unter einer Glasglocke im Zimmer tagelang halten, wobei reichlich Mitosen ablaufen.

Stellt man „Kältepflanzen“ mit maximal ausgebildeten Spezialsegmenten bei einer Temperatur von 15—17° C auf, so werden die Spezialsegmente nach 3 Stunden undeutlich, bis sie nach 6 Stunden praktisch

¹ Nur bei unvollkommener Ausbildung der Spezialsegmente bzw. ungenügender Fixierung treten, wie auch DARLINGTON und LA COUR fanden, Bilder auf, die an Trabanten oder sekundäre Einschnürungen erinnern. Häufig wird bei längeren Spezialsegmenten ein Trabant auch dadurch vorgetäuscht, daß das Ende abgelenkt ist und optisch verkürzt erscheint (solche Fälle sind auch auf Abb. 2 zu sehen).

verschwunden sind und weiterhin nicht mehr auftreten. Das „Verschwinden“ erfolgt nicht als unmittelbare physikalische Wirkung der hohen Temperatur oder als Antwort auf den Temperaturschock, sondern

setzt offenbar erst im nächsten bei höherer Temperatur beginnenden Mitosezyklus ein. Bringt man diese Pflanzen oder andere, die längere Zeit bei höherer Temperatur standen und keine Spezialsegmente ausgebildet haben, in schmelzendes Schnee oder in einen Eisschrank mit einer

Temperatur von plus $\frac{1}{2}$ bis 2°C , so zeigen sich nach 6 Stunden Spezialsegmente in typischer Ausbildung. Da die Pflanzen mehrere Blüten



a



b



c

Abb. 2 a—c. *Adoxa moschatellina*, Kältepflanze. Somatische Metaphase (a) und Anaphasen. Alk.-Eis., Essigkarmin, Venet.-Terp.; Photo, a, b etwa 2000fach, c etwa 1500fach.

und nicht selten auch zwei Blütenstände bilden, läßt sich wiederholter Temperaturwechsel mit nachfolgender Untersuchung an der gleichen Pflanze mit der nötigen Exaktheit durchführen. Alle Versuche liefern das gleichbleibende Ergebnis, daß Spezialsegmente nur bei Temperaturen in der Nähe von 0° ausgebildet werden. — Ein entsprechendes Verhalten zeigten die Wiener Pflanzen. Bei einer Morgentemperatur von plus 3°C

waren deutliche, wenn auch nicht maximale Spezialsegmente vorhanden, während sie tagsüber bei Temperaturen bis zu 16°C fehlten. — Ebenso verhielten sich Pflanzen aus Lunz, die in der ersten Maihälfte untersucht wurden und die bei relativ hohen Temperaturen bereits fruchteten, erwartungsgemäß: im Kälteschrank bei einer Temperatur von plus $1\frac{1}{2}$ —2° C aufgestellt ließen sich in den Mitosen der Samen Spezialsegmente nachweisen.

Auf Grund dieser Beobachtungen ist die Vorstellung DARLINGTONs und LA COURs, derzufolge die Spezialsegmente durch eine besondere Reaktionsfähigkeit gegenüber bestimmter Fixierung ausgezeichnet sind, zu berichtigen. Bei *Adoxa* lassen sich die Spezialsegmente nur erkennen, wenn die entsprechende tiefe Temperatur gegeben ist; dann aber treten sie bei beliebiger Fixierung auf. Es handelt sich also primär um eine unterschiedliche temperaturbedingte Reaktion der Endsegmente. DARLINGTON und LA COUR fanden übrigens die Spezialsegmente in konstanter Ausbildung nur in Präparaten, die an einem Tag, und zwar im März, angefertigt worden waren und vermuten, daß hierbei „the condition of the plant, possibly depending on temperature, is concerned with the reaction“.

Eine Eigenheit, die vielleicht bis zu einem gewissen Grad mit der Ausbildung von Spezialsegmenten zusammenhängt, ist die in den Mitosen aller Gewebe von *Adoxa* häufig zu beobachtende Bildung anaphasischer Chromosomenbrücken. Sind Spezialsegmente ausgebildet, so zeigt es sich, daß diese die Verbindung der Tochterplatten herstellen. In der späten Anaphase erscheint dann ein feiner, an der Grenze der Sichtbarkeit stehender Faden zwischen den Enden, der aber schließlich durchreißt, so daß keine nachhaltige Störung entsteht (Abb. 1d). Anaphasische Verbindungsfäden treten jedoch auch auf, wenn keine Spezialsegmente ausgebildet sind; auch trennen sich viele Spezialsegmente in der Anaphase ganz normal und spreizen in der Metaphase auseinander (Abb. 1a, 2a), so daß zweifellos noch andere Umstände für die Ausbildung von Brücken maßgebend sein müssen (vgl. auch Anhang II).

Auf die allgemeine Bedeutung, die den Spezialsegmenten als neuer Ausdruck der chromosomalen Längsdifferenzierung zukommt, haben schon DARLINGTON und LA COUR hingewiesen. Sie vermuten, daß die Spezialsegmente infolge des Ausfalls von crossing over in ihnen genetisch inert sein könnten; hierzu würde stimmen, daß auch *Adoxa* wie *Paris* proximal lokalisierte Chiasmata besitzt. Vielleicht besteht auch eine Beziehung zu der Erscheinung, daß sich natürliche Chromosomenenden anders als spontan oder im Röntgenversuch frisch entstandene verhalten (Fehlen terminaler Inversionen und Translokationen); es wäre dann anzunehmen, daß Spezialsegmente allgemein verbreitet sind, aber nicht immer gesehen werden können (wie an manchen Armen der Chromosomen von *Paris* und *Adoxa*), oder daß die Reize, welche die sichtbare Reaktion hervorrufen, unterschwellig bleiben können. Jedenfalls dürfte es kein Zufall sein, daß sowohl bei *Paris* wie bei *Adoxa* nur terminale Spezialsegmente vorkommen.

Anhang I.

Der Ruhekern von *Adoxa* besitzt Chromozentren, die in entspiralisierte Chromonemen eingebettet sind (Abb. 3), nicht aber, wie bei vielen anderen Dikotylen, frei im scheinbar „leeren“ Kernraum liegen; ganz ähnlich wie *Adoxa* verhalten sich *Rhoeo*, *Lilium*, *Anemone* und andere Pflanzen. Es wäre überflüssig darauf hinzuweisen, wenn nicht jüngst DOUTRELIGNE die Meinung vertreten hätte, daß es nur Kerne mit Chromozentren, aber ohne euchromatisches Chromonema („type euchromocentrique“) und solche mit Chromonemen, aber ohne Chromozentren („type reticulé“) gäbe. In Wirklichkeit stellt sich das Aussehen der Kerne von *Adoxa* u. a. dann ein, wenn nur kleine Abschnitte der Chromosomen heterochromatisch sind, während bei fast völliger Heterochromasie der Chromosomen die Chromozentren oder „Prochromosomen“ frei im Kernsaft liegen bzw. bei Fehlen von Heterochromatin überhaupt nur entspiralisierte Chromonemen vorhanden sind. Im Fall von *Adoxa* ist der Ausdruck „Prochromosomen“, den LAGERBERG gebraucht, nicht am Platz, da nur einzelne Abschnitte der Chromosomen die Chromozentren bilden, was sich in der somatischen Telophase wie im Lepto- und Pachytän



Abb. 3. *Adoxa moschatellina*, Kältepflanze. Übersichtsbild aus einem jungen Korollblatt mit zwei Ruhekernen und einer Anaphase, etwa 1000fach; rechts oben der rechte Teil der Anaphasefigur etwa 1500fach vergr. Alk.-Eis., Essigkarmin, Venet. Terp.; Photo.

leicht feststellen läßt. Die Zahl der Chromozentren beträgt nach GUTTENBERG 25—30, nach LAGERBERG 30—40; in Wirklichkeit liegt sie noch etwas höher und kann mit ungefähr 45 angegeben werden.

Anhang II.

Die Entstehung der auffallend großen Kerne der Tapetumzellen von *Adoxa* wurde von LAGERBERG nicht ganz richtig beschrieben. Der wesentliche Vorgang besteht darin, daß gehemmte Mitosen auftreten, d. h. in der Anaphase Chromosomenbrücken ausgespannt bleiben. Diese Brücken sind oft in größerer Zahl vorhanden, bleiben verhältnismäßig dick und führen bald zu einer Verschmelzung der Tochterkerne. In anderen Fällen sind sie in geringerer Zahl, oft nur in der Einzahl vorhanden, hemmen dann die Anaphasebewegung kaum und werden zu sehr feinen

und langen, leicht zu übersehenden Fäden ausgezogen, die die rekonstruierten Tochterkerne verbinden; manchmal fehlen sie ganz, doch entsteht zwischen den Tochterkernen keine Scheidewand, so daß die Zellen zweikernig werden. Die Vorgänge sind grundsätzlich die gleichen, wie sie kürzlich STIEL für Tapetumzellen von Farnen beschrieben hat. Die Folge der gehemmten Anaphase besteht auch bei *Adoxa* darin, daß tetraploide und nach Wiederholung oktoploide Kerne entstehen; sie sind im Ruhezustand nicht nur an ihrer Größe, sondern auch an der vermehrten Zahl der Chromonemen und Chromozentren leicht zu erkennen. LAGERBERG hielt die Verschmelzungsstadien nach gehemmten Anaphasen irrtümlicherweise für Amitosen, übersah die Polyploidie und glaubte die Vergrößerung der Kerne durch einfaches Wachstum erklären zu können.

Die Brückenbildung bzw. „Restitutionskernbildung“ findet in gleicher Weise in Pflanzen mit ausgebildeten Spezialsegmenten wie in Pflanzen ohne solche statt. Die Mitosehemmung ist also nicht ursächlich mit der Ausbildung von Spezialsegmenten verknüpft, sondern wird vom physiologischen Zustand der Tapetumzellen bestimmt. Die Brücken, die manchmal in anderen Mitosen auftreten, führen, wie erwähnt, zu keiner bleibenden Teilungsanomalie.

Zusammenfassung.

Bei *Adoxa moschatellina* lassen sich mit beliebiger Fixierung terminale Spezialsegmente der Chromosomen nachweisen. Es handelt sich offenbar um eine vitale Struktur. Ihr Auftreten ist an Temperaturen gebunden, die wenig über dem Nullpunkt liegen. Die Spezialsegmente bilden sich unter diesen Bedingungen im Freien wie auch nach künstlicher Beeinflussung im Kälteschrank, und zwar in allen somatischen Mitosen und auch in der Meiose. Durch hohe Temperatur lassen sich die Spezialsegmente wieder zum Verschwinden bringen.

Der Ruhekern ist aus euchromatischen Chromonemen und aus Chromozentren, die kleinen Chromosomensegmenten entsprechen, aufgebaut.

Die Tetraploidie und Oktoploidie der Kerne der Tapetumzellen entsteht durch Hemmung der Anaphasen unter Brückenbildung und Verschmelzung der Tochterkerne.

Literatur.

- Darlington, C. D. and L. La Cour: Differential reactivity of the chromosomes. Ann. of Bot., N. s. 2 (1938). — Douteiligne, J.: Les divers „types“ de structure nucléaire et de mitose somatique chez les phanérogames. Cellule 48 (1939). — Guttentberg, H. v.: Cytologische Studien an Synchronium-Gallen. Jb. Bot. 46 (1909). — Lagerberg, T.: Studien über die Entwicklungsgeschichte und systematische Stellung von *Adoxa moschatellina*. K. Sv. Vet. Akad. Handl. 44 (1909). — Matsuura, H.: Chromosome studies on *Trillium kamtschaticum* VI. Cytologia 9 (1938). Resende, F.: Chromosome structure as observed in root tips. Nature (Lond.) 144, 481 (1939). — Stell, W. N.: Incomplete nuclear and cell division on the tapetum of *Botrychium virginianum* and *Ophioglossum vulgatum*. Amer. J. Bot. 22 (1935).

(Aus der chemischen Abteilung des Karolinischen Instituts in Stockholm.)

DIE EIWEISSVERTEILUNG IN DEN STRUKTUREN DES ZELLKERNS.

Von

TORBJÖRN CASPERSSON.

Mit 17 Textabbildungen.

(Eingegangen am 21. August 1940.)

Inhaltsübersicht.

	Seite
Makrochemische Untersuchungen	562
Ultraviolettabsorption der Eiweißsubstanzen	566
Analyse der Absorptionskurven	571
Methodik	575
Messungen an Speicheldrüsenchromosomen (<i>Drosophila melanogaster</i> , gt w ^a)	578
Der Speicheldrüsenkern als Ruhekern	587
Messungen an Metaphasechromosomen	589
Messungen am Eizellkern	590
Erörterung der Messungsergebnisse	591
In welchem Maße wird der hier vorgeschlagene Mechanismus durch die histo- chemischen Untersuchungen gestützt?	596
Zusammenfassung	601
Literatur	602

Makrochemische Untersuchungen.

Die makrochemischen Untersuchungen der Eiweißsubstanzen des Zellkerns umfassen nur eine recht begrenzte Anzahl verschiedener Objekte, bei welchen das Verhältnis zwischen Kern und Cytoplasma besonders günstig war. Die ersten Beobachtungen wurden von MIESCHER etwa 1870 angestellt. Er behandelte Eiterzellen mit Pepsin-Salzsäure, wobei das Cytoplasma aufgelöst wurde. In der zurückbleibenden Masse, welche, wie er unter dem Mikroskop sah, aus nackten, unbeschädigten Kernen bestand, fand MIESCHER den sauren phosphorhaltigen Körper, welchen er als „Nuclein“ bezeichnet hat. Nukleine mit verschiedenem Phosphorgehalt fand MIESCHER in verschiedenem Material und er hielt dieselben für allgemeine Zellbestandteile. Für die saure Komponente in ihnen schlug ALTMANN die Bezeichnung Nukleinsäure vor, welche allgemein akzeptiert wurde. Gewisse „Nuklein“-präparate von MIESCHER müssen so rein gewesen sein, daß sie aus der reinen „Nukleinsäure“ bestanden.

Bei umfassenden Untersuchungen von Lachshoden wies MIESCHER nach, daß der fettextrahierte reife Spermienkopf zu 96% aus Nucleinsäure und einem basischen Eiweißkörper bestand, welchen er Protamin nannte. Der Gehalt an diesen Substanzen war in verschiedenen Präparaten außerordentlich konstant. Nach den früheren Untersuchungen

sollten nur 83% nukleinsaures Protamin sein, und MIESCHER beschrieb, wie im Zentrum des Spermiums ein Kern aus „wirklichen Eiweißkörpern“ (1891) vorhanden wäre. Seinen späteren Untersuchungen nach, welche von O. SCHMIEDEBERG (1896) gesammelt und herausgegeben worden sind, dürfte der Kern des Spermiums aus einem saureren und die Oberflächenschicht desselben aus einem mehr basischen nukleinsauren Protamin bestehen, welche zusammen 96% ausmachen. Von den restlichen 4% läßt sich etwas mehr als die Hälfte mit Salzsäure extrahieren. In ihnen ist etwas Sulphat, Calcium und Eisen enthalten. Diese sehr umfassenden Analysen zeigen folglich mit Sicherheit, daß in den entfetteten Lachspermien höchstens 4% andersartige Bestandteile als eine einfache Nukleinsäure-Protaminverbindung enthalten sind, und sucht man nach einem speziellen Substrat für den Gentransport von anderem, komplizierterem Charakter, so ist folglich undenkbar, daß dasselbe mehr als höchstens $\frac{1}{25}$ des Spermienkerns ausmachen sollte. KOLTZOFF (1908) fand außerdem, daß bei Entfernung der Schwänze nach der MIESCHERSchen Technik ein kleiner Teil zurückblieb, wodurch wenigstens der Hauptteil jener 4% erklärt werden könnte. In leider durch MIESCHERs Tod abgebrochenen Arbeiten wurden andere Eiweißsubstanzen im unreifen Hoden nachgewiesen. MIESCHER hielt für wahrscheinlich, daß sich die Protamine durch Abbau höherer Eiweißstoffe bildeten, genauer gesagt der „Kernalbuminosen“, welche am ehesten den später von KOSSEL bearbeiteten Histonen entsprechen dürften (s. KOSSEL 1928 und KOSSEL und SCHENCK 1928; Protamine, Histone und basische Peptone: FELIX 1922, 1; 1922, 2; 1922, 3). Alle drei Gruppen werden dadurch gekennzeichnet, daß sie große Mengen basischer Aminosäuren enthalten (25—65% des Gesamtstickstoffs entfallen auf die Hexonbasen). Bisher ist die Zusammensetzung an Protaminen von 17 verschiedenen Fischarten untersucht worden. Sie haben sämtlich einen einfachen Bau mit großen Mengen basischer Aminosäuren, vor allem Arginin, Histidin und Lysin, welche so gebunden sind, daß Aminogruppen frei gelassen werden. Das Verhältnis zwischen diesen Aminosäuren und den anderen Aminosäuren in Protaminen von verschiedenen Fischarten ist wechselnd. Tyrosin ist nur in vereinzelten Fällen beobachtet worden und da in kleinen Mengen (0,6% des Gesamtstickstoffs bei Thynnin, die einzige Ausnahme bildet Cyclopterin mit 2,2%). Die Tryptophananalysen sind sehr unvollständig, deuten aber analoge Verhältnisse an.

In einigen der untersuchten Fälle sind totale Analysen des Spermas durchgeführt worden. MATHEWS (1897) fand keine wasserunlöslichen Lipide und stellte außerdem fest, daß die Köpfe kein gewöhnliches Eiweiß enthielten. Tyrosin- und Tryptophanreaktionen sowie Proben auf koagulierbares Eiweiß waren negativ. Die Menge des nukleinsauren Protamins war so groß, daß MATHEWS es für sicher hielt, daß der Spermienkopf daraus besteht. Auch STEUDELs (1911, 1, 2; 1913) Untersuchungen

desselben Materials ergeben mit großer Wahrscheinlichkeit das gleiche. Bei der Maräne (*Coregonus albus*) kam LYNCH (1920) zu demselben Resultat. In Analogie mit MIESCHERs oben angeführter Analyse des Lachsspermas zeigen diese Untersuchungen, daß allerhöchstens ein oder wenige Prozent von anderen Substanzen als Protaminnukleat im Spermienkopf Platz finden kann und daß dort keine höheren Eiweißkörper vorhanden sind.

Mehrere verschiedene Protamine können bei ein und derselben Art, z. B. beim Hering, vorkommen (GOTO 1903, KOSSEL und SCHENCK 1928).

Protamine konnten niemals aus anderem Material als reifem Fischsperma isoliert werden. Histone sind dagegen aus dem Sperma gewisser Fische (KOSSEL und KUTSCHER 1900, KOSSEL und H. PRINGLE 1906, EHRSTRÖM 1901) und einer ganzen Reihe von anderen Zellen dargestellt worden. Sie haben ebenfalls basischen Charakter, enthalten aber erheblich geringere Mengen von Hexonbasen. So erreicht der Argininstickstoff selten 30 %, während gewisse Protamine bis 90 % enthalten. Die Monoaminosäuren bieten auch ein abwechslungsreicheres Bild. Tyrosin scheint stets vorhanden zu sein, und in denjenigen Fällen, wo quantitative Bestimmungen ausgeführt worden waren, sind die Werte in der Regel hoch.

Aus unreifen Gonaden sind andere Substanzen von mehr oder weniger ausgeprägtem Histoncharakter dargestellt worden, beispielsweise bei der Makrele (BANG 1899) und Echinodermen (MATHEWS 1897, KOSSEL und EDLBRACHER 1915, KOSSEL und STAUDT 1926).

Daß während der Reifung der Spermien ein wirklicher Umbau von Eiweißstoffen stattfindet, hatte schon MIESCHER vermutet. Den Beweis, daß dies der Fall ist, daß also die gewöhnlichen höheren Eiweißsubstanzen in einfachere — in Histone oder weiter in Protamine — umgeformt werden, erbrachte KOSSEL. Am besten wurde dies bei der Untersuchung von Karpfenhoden demonstriert (KOSSEL und DAKIN 1904, KOSSEL und SCHENCK 1928). Diese Forscher fanden ein Histon, ein Protamin und mehrere basische Peptone, darunter eins von Protamincharakter. Auch aus Heringshoden wurde eine Serie derartiger Substanzen dargestellt. Orientierende Untersuchungen der Flußbarbe und der Plötze machten wahrscheinlich, daß man auch in diesen Hoden Tripeptone, Histone und Protamine finden würde. Die basischen Eiweißkörper im Spermienkopf des Lachses, Störs und der Forelle schienen dagegen einheitlich zu sein. MIESCHER wies nach, daß im Lachshoden die Reifung in allen Teilen des Testikels gleichzeitig vor sich geht. Während der Reifungszeit wächst der Hoden enorm, von $\frac{1}{1000}$ — $\frac{1}{700}$ des Körpergewichts beim Winterlachs bis auf $\frac{1}{20}$ bei voller Reife im Herbst. Der Bedarf an Aminosäuren für diese gewaltige Produktion von Protamin wird durch Abbau der Rumpfmuskulatur gedeckt. Beim Karpfen reifen die einzelnen Teile verschieden schnell, und es findet keine wesentliche Gewichtsveränderung während der Reifung statt. Diese anatomischen Verhältnisse müssen

in Beziehung zu dem einheitlichen Bau vom Eiweiß des reifen Lachshodens und dem uneinheitlichen beim Karpfen verstanden werden. Durch Untersuchung von Karpfenhoden in verschiedenen Jahreszeiten, konnte KOSSELs Ansicht, daß Protamin das Endstadium einer Entwicklungsreihe von höheren Eiweißstoffen her über Histon sei, bestätigt werden. Die basischen Peptone konnten an verschiedenen Stellen der Verwandlungskette als intermediäre Produkte passen.

Diese Untersuchungen zeigen, daß bei Ausbildung der Spermien höhere Eiweißsubstanzen in niedrigere umgewandelt werden, auf dem Wege über die Histone in Richtung auf die einfachen Protamine. Bei gewissen Fischen geht die Entwicklung bis zu den einfachsten Protaminen, welche wenig Aminosäuren enthalten. Bei anderen Tieren, Evertebraten und Vertebraten, scheint die Entwicklung, wenigstens oft, im Histonstadium Halt zu machen. Daten von Säugetieren sind jedoch sehr spärlich und unvollständig. — Aus Pflanzen sind bisher weder Protamine noch Histone dargestellt worden.

MIESCHER untersuchte Stiersperma, fand aber kein Protamin und auch „keine andere ihm äquivalente Base“ (Ges. Abh. S. 73). Weitere Untersuchungen von Säugetiersperma scheinen nicht vorzuliegen. Dieser Beobachtung kann keine Bedeutung beigemessen werden, da die übrigen in Betracht kommenden basischen Eiweißstoffe damals noch unbekannt waren.

In anderen Kernen sind keine Protamine nachgewiesen worden, aber in vielen Fällen Histone. Infolge der Schwierigkeit, Kerne und Cytoplasma voneinander zu trennen, ist indessen die Anzahl der untersuchten Zelltypen begrenzt. In Gänseblutkörperchen fand KOSSEL 1884 den basischen Eiweißkörper in Verbindung mit Nukleinsäure, was ihn zur Aufstellung der Gruppe Histone veranlaßte. ACKERMAN (1904) stellte eine ähnliche Substanz aus Hühnerblutkörperchen dar. Die Quantität war so groß, daß man annehmen muß, der bei weitem überwiegende Teil der Kernmasse bestehe aus diesen Substanzen. In dem fettextrahierten Material lag der Nukleinsäuregehalt bei 42% und der Histon-gehalt fast bei 58%.

Im Thymus fand LILIENTHAL (1894) große Mengen von Histon, was später von mehreren Untersuchern bestätigt wurde. Auch hier liegt der Histon-gehalt im Nukleohiston bei etwa 40%. Nach HUISKAMP (1903) und BANG (1904) läßt sich das Thymusnukleohiston in zwei Fraktionen mit verschiedenem Phosphorgehalt zerlegen, welche wahrscheinlich im Organ präformiert vorhanden sein sollen. In dem LILIENTHALschen Nukleohiston ist auch ein „Nukleoprotein“ nachgewiesen worden, welches eine Eiweißsubstanz mit weniger Stickstoff enthält. Die Herkunft derselben ist unbekannt. Auch in Lymphdrüsen des Rindes fand LILIENTHAL ein Nukleohiston, ähnlich dem Thymushiston. Er weist besonders auf die sehr konstante Zusammensetzung verschiedener Präparate aus

demselben Organ hin. Histopectone (bei Pepsinverdauung von Histonen entstehende Produkte) wies KRASNOSELSKY (1906) beim Kabeljau in der Darmschleimhaut, dem Hoden, der Milz, Leber und den Lymphdrüsen nach. Die Versuche sind nicht ausführlich beschrieben.

Alle diese Daten scheinen darauf hinzuweisen, daß die Histone universell verbreitete Kernbestandteile im Tierreich sind.

Die Frage, ob höhere nichtbasische Eiweißsubstanzen im Zellkern vorkommen, ist schwer zu entscheiden. In Vogelblutkörperchen und im Thymus können, verglichen nur mit den Histonen, möglicherweise kleine Mengen vorkommen (siehe oben), in anderen, nicht so kernsubstanzreichen Organen wird die Untersuchung durch die Notwendigkeit, Kern und Cytoplasma zu trennen, weiter erschwert. Es existiert jedoch nicht die geringste Veranlassung, zu bestreiten, daß dies der Fall wäre. ISHIYAMA (1928) digerierte Lebersubstanz mit Pepsin und analysierte den Rückstand. Er fand zusammen mit der Nukleinsäure eine Eiweißsubstanz, welche seiner Ansicht nach nicht zur Protamin- oder Histongruppe gehörte.

Ultraviolettabsorption der Eiweißsubstanzen.

Die Ultraviolettabsorption der Eiweißsubstanzen wird durch die in ihnen enthaltenen Aminosäuren bedingt. Die Bindung im Eiweißmolekül hat auf die Absorption nur geringen Einfluß. Selektive Absorption mit einer Bande zwischen 2600 und 3000 Å besitzen Tyrosin, Tryptophan und Phenylalanin (Abb. 1). Die Absorptionsbande bei 2800 Å, welche die meisten höheren Eiweißstoffe aufweisen, ist auf diese Säuren zurückzuführen (DHÉRE 1909). Die übrigen Aminosäuren haben keine oder eine verhältnismäßig sehr schwache selektive Absorption. Unter 2500 Å zeigt die Eiweißabsorption einen mit fallender Wellenlänge immer stärkeren Anstieg. Zu dieser nichtselektiven Absorption tragen sämtliche Aminosäuren, wenn auch in verschiedenem Grade, bei. Das Phenylalanin hat ein breites Maximum bei etwa 2600 Å, welches mehrere schmalere Absorptionsbanden enthält (ROSS 1934, FERAUD, DUNN und KAPLAN 1935—1936, BECKER 1935, COULTER, STONE und KABAT 1936). Verglichen mit der Tyrosin- und Tryptophanbande ist dasselbe von untergeordneter Bedeutung; BECKER gibt die ungefähre Absorptionsfähigkeit von Tryptophan: Tyrosin: Phenylalanin mit 1:0,5:0,05 an. Die Absorptionen des Tryptophans und Tyrosins waren Gegenstand einer Reihe von Untersuchungen (STENSTRÖM und REINHARD; FERAUD, DUNN und KAPLAN; COULTER, STONE und KABAT u. a. m.) Über 2600 Å dominiert die Tyrosin- und Tryptophanabsorption in gewöhnlichen Eiweißstoffen dermaßen, daß der Einfluß der übrigen Aminosäuren unberücksichtigt bleiben kann. HOLIDAY (1936) hat hierauf eine Methode basiert, den Tyrosin- und Tryptophangehalt in Eiweißstoffen zu bestimmen.

Bei diesen Untersuchungen wurde nachgewiesen bzw. bestätigt, daß das Tryptophan ein Maximum bei 2750–2800 Å hat und daß Lage und Form dieser Bande von der Wasserstoffionenkonzentration sehr unerheblich beeinflusst werden. Das Maximum des Tyrosins liegt in stark

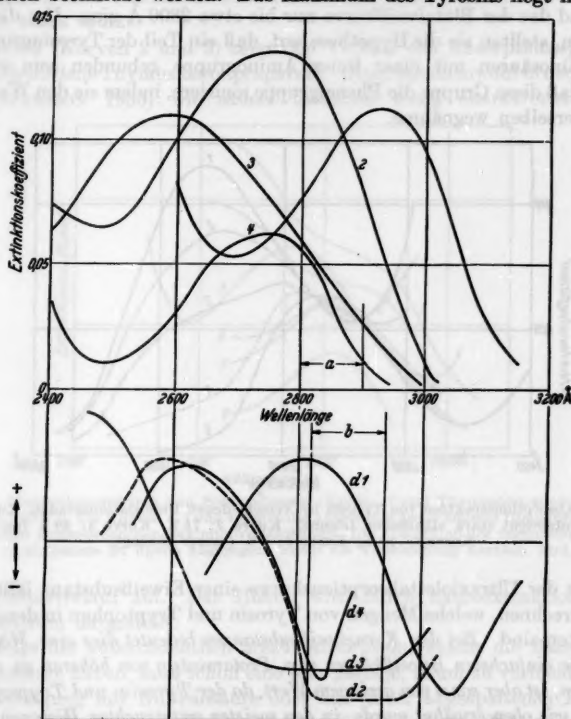


Abb. 1. Absorptionsspektren und abgebildete Kurven der Absorptionsspektren von 10^{-10} mg Tyrosin pro μ^2 in saurer Lösung (Kurve 1), dasselbe in alkalischer Lösung (Kurve 2), $0,5 \cdot 10^{-10}$ mg Tryptophan pro μ^2 (Kurve 3), $0,5 \cdot 10^{-10}$ mg Natriumthymonukleat (Kurve 4). d1, d2, d3 und d4 sind die dazugehörigen abgeleiteten Kurven. Das bei der Analyse in Frage kommende Gebiet der Tyrosinmaximumverschiebung ist a. Das Gebiet, wo sowohl die Nukleinsäurekurve als die Tryptophankurve fast gerade laufen, ist b.

alkalischer Lösung bei 2950 Å und in saurer bei 2750 Å (Abb. 2). STENSTRÖM und REINHARD (1925) waren der Ansicht, diese Verschiebbarkeit beruhe darauf, daß das Tyrosin eine an den Benzolkern gebundene OH-Gruppe besitzt und daß diese Phenolgruppe dissoziiert. Dieselben Autoren beobachteten auch bei Bluteiweißsubstanzen eine derartige Verschiebung des Absorptionsmaximums mit der Wasserstoffionenkonzentration. Letztere war jedoch nicht ganz so groß wie bei einer

Mischung von freien Aminosäuren in denselben Proportionen wie im Eiweiß. In stark alkalischer Lösung war die Übereinstimmung mit einem Maximum für beide Lösungen nahe bei 2900 Å eine gute, aber bei p_H 7,5 hatte sich das Maximum der Aminosäurenmischung auf 2750 Å verschoben, während das der Bluteiweißkurve nur bis etwa 2800 Å ging. Um dies zu erklären, stellten sie die Hypothese auf, daß ein Teil der Tyrosingruppen an Aminosäuren mit einer freien Aminogruppe gebunden sein sollte, sowie daß diese Gruppe die Phenolgruppe ionisiere, indem sie den Wasserstoff derselben wegnähme.

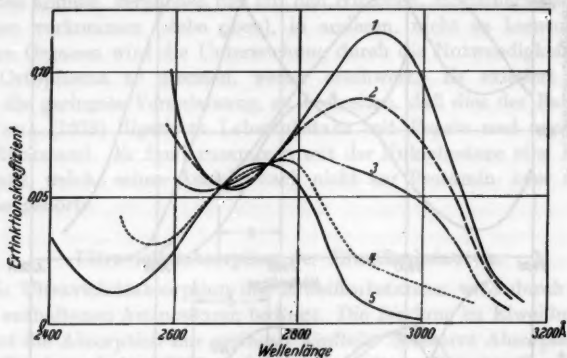


Abb. 2. Absorptionsspektren von Tyrosin bei verschiedenen Dissoziationsgraden. Kurve 1: 100 % (entspricht stark alkalischer Lösung), Kurve 2: 75 %, Kurve 3: 50 % (p_H 10,3), Kurve 4: 15 %, Kurve 5: 0 % (saurer Lösung).

Aus der Ultraviolettabsorptionskurve einer Eiweißsubstanz läßt sich also berechnen, welche Mengen von Tyrosin und Tryptophan in derselben enthalten sind. Bei den Kerneiweißsubstanzen bedeutet dies eine Möglichkeit, die einfachsten Eiweißkörper vom Protamintyp von höheren zu unterscheiden, ist aber sonst von geringem Wert, da der Tyrosin- und Tryptophan-gehalt, wie oben erwähnt wurde, in den meisten untersuchten Histonen nahe bei den Werten für Eiweißstoffe vom Albumin-Globulintyp liegt.

Da die Histone beträchtliche Mengen von Diaminosäuren enthalten, würde die Verschiebung des Maximums mit der Wasserstoffionenkonzentration größer als bei den Albuminen sein und somit eine Möglichkeit gewähren, diese Substanzklasse zu identifizieren. Die Dissoziationskonstante für die Phenolgruppe des Tyrosins liegt bei 10,3. Das Absorptionsspektrum in stark saurer Reaktion geht aus Abb. 2, Kurve 5 und in stark alkalischer aus Kurve 1 hervor. Wenn der eine von diesen Absorptionstypen dem undissoziierten Molekül und der andere dem dissoziierten angehört, so muß bei p_H 10,3, wo die Konzentrationen derselben gleich sind, die halbe Anzahl der Moleküle den

einen Absorptionstyp und die andere Hälfte den anderen haben. Die Werte für die Absorption bei pH 10,3 würden also bei jeder Wellenlänge arithmetische Mittel zu den Kurven 1 und 2 ausmachen. Die Kurve von STENSTRÖM und REINHARD sind damit vereinbar, was ihre erste Annahme stark stützt.

Abb. 3 (Kurven 2 und 3) zeigt den Verlauf von Absorptionsspektren für verschiedene Thymushistonpräparate. Diese weisen sowohl in neutraler (s. CASPERSSON 1936) wie saurer Reaktion einen charakteristischen

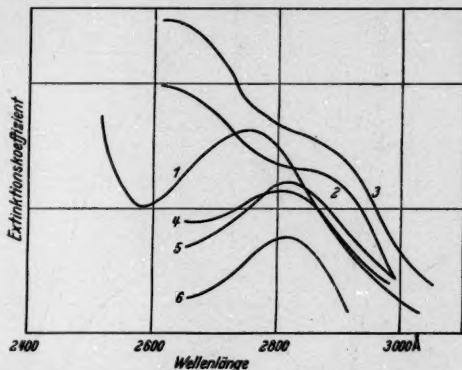


Abb. 3. Absorptionsspektren von Serumalbumin (Kurve 1) und Thymushistonpräparaten (Kurven 2 und 3). Die Kurven 4, 5 und 6 zeigen die Absorption dreier anderer Histonpräparate mit weniger ausgesprochener Maximumverschiebung. Die Absorption der verunreinigenden Nukleinsäure ist davon abgezogen, wobei die Verschiebung deutlich wird.

Absorptionsverlauf auf. Das Histon wird durch Säureextraktion aus Nukleohiston dargestellt.

Infolge der außerordentlich hohen Absorption, welche die Basen der Nukleinsäure haben, muß schon eine sehr geringe, kaum zu vermeidende, Verunreinigung mit Nukleinsäure oder aus dieser abgespaltenen Purinbasen im Absorptionsspektrum als ein überlagertes Maximum bei 2600 Å deutlich hervortreten. Wird diese Absorption von den Kurven subtrahiert, so geht hervor, daß die Eigenabsorption der Eiweißsubstanzen ein in saurer Lösung 50–100 Å langwelligeres Maximum hat als Serumalbumin oder Globulin. Die Lage ist bei den einzelnen Präparaten etwas verschieden. Dies ist gerade der Effekt, welcher dem Obengesagten nach zu erwarten war. Untersucht sind 6 verschiedene Histonpräparationen aus Thymus, welche sämtlich die nach KOSSEL für Histone charakteristischen Fällungsreaktionen geben.

Der Unterschied in der Lage des Maximums zwischen den Histonen und den Serumalbuminen und Globulinen mag recht klein erscheinen. Wenn das Maximum über eine Nukleinsäureabsorption gelagert wird,

welche gerade in dem betreffenden Gebiet rasch fällt, wird der Unterschied jedoch sehr augenfällig, was von Abb. 4 demonstriert wird. Die nähere Erklärung hierfür geht aus Abb. 7 auf S. 574 hervor.

Da die Eiweißabsorption bei dieser Wellenlänge gänzlich von den Tyrosin- und Tryptophanbanden bestimmt wird, von welchen die letztere

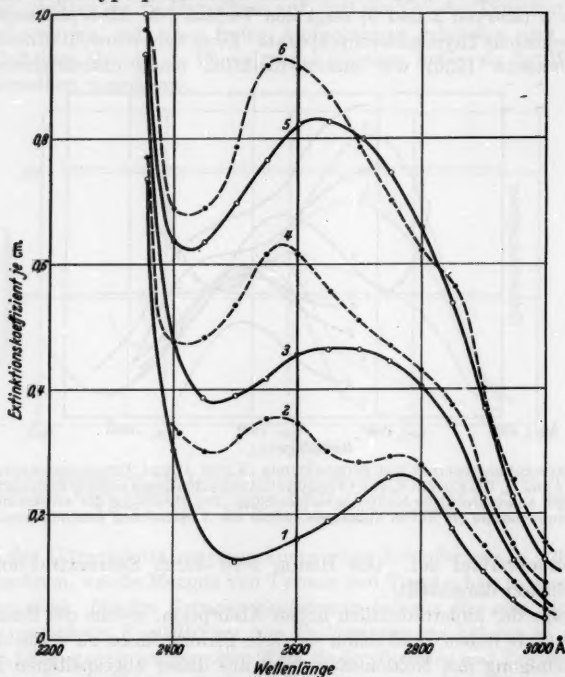


Abb. 4. Absorptionsspektren für 0,85%ige saure Lösungen von Serumalbumin und einem Thymushistonpräparat (Kurve 1 und 2) vor und nach Zusatz von Nukleinsäure zu 0,03% (Kurve 3 und 4) bzw. 0,015% (Kurve 5 und 6). Sämtliche histonhaltigen Lösungen (gestrichelt) zeigen eine Ausbiegung bei etwa 2800 Å, welche sich bei den Albuminlösungen (ausgezogen) nicht beobachten läßt.

fix zu sein scheint, muß die Verschiebung auf eine Lageänderung der Tyrosinbande um 100–150 Å nach der langwelligen Seite zurückzuführen sein im Vergleich zu Eiweißsubstanzen vom Albumintyp, und man muß vermuten, daß diese Veränderung von dem hohen Gehalt an Diaminosäuren verursacht wird. Den direkten Beweis für diesen Mechanismus können nur Untersuchungen der betreffenden Dipeptide liefern, welche nicht ausgeführt wurden, da Beobachtungen an Histonpräparaten, welche man nach KOSSELS Untersuchungen über die Bildungsweise derselben

für ziemlich uneinheitlich halten muß, nicht voll beweisender Wert zu-erkannt werden kann. Deshalb sind auch die Wahrscheinlichkeitsbeweise von Bedeutung, welche der Umstand liefert, daß das langwellige Band gerade in denjenigen Zellstrukturen besonders ausgeprägt zur Beobachtung gelangt, bei welchen Färbungsversuche das Vorkommen von Substanzen mit mehr basischem Charakter als dem der Hauptmasse der Zytoplasmaweiweißstoffe zeigen.

Die langwellige Bande (2800—2850 Å), welche in gewissen Kernelementen beobachtet worden ist (s. u.), kann also durch die Annahme völlig erklärt werden, daß dieselbe von basischen Eiweißkörpern mit auf 2850—2900 Å verschobenem Tyrosinmaximum bedingt wird, was von Modellversuchen gestützt wird. Da die Bande nach sehr intensiver Fettextraktion bestehen bleibt, erscheint zur Zeit keine andere Erklärung möglich, bis auf die Annahme bisher unbekannter Substanzen, was im Hinblick auf den hohen Wert der Absorption äußerst unwahrscheinlich ist.

In Erwartung weiterer Untersuchungen dieses Mechanismus wird im folgenden die Bezeichnung „Eiweiß vom Histonabsorptionstyp“ verwendet. Für Eiweiß mit dem Absorptionstyp der Albumine und Globuline wird die Bezeichnung „Eiweiß vom höheren Typ“ gebraucht.

Die Absorption unter 2600 Å ist so unspezifisch, daß sie für mehr ins einzelne gehende Studien nicht verwendbar ist. Das Phenylalanin sollte theoretisch mit Hilfe der kleinen überlagerten Banden desselben bestimmbar sein. Diese sind indessen dermaßen schwach, daß schon mit gewöhnlichen spektrographischen Methoden eine Bestimmung äußerst schwer und unsicher ist. Außerdem wird dieselbe durch die Anwesenheit von Tryptophan gestört; alles dies erschwert die Bestimmung in hohem Grade.

Analyse der Absorptionskurven.

Die Absorptionskurven der Kernsubstanzen müssen sich aus folgenden Komponenten zusammensetzen (s. Abb. 5): 1. Nukleinsäuren, d. h. aus der Pyrimidinringbande bei 2600 Å sowie einer unspezifischen Absorption, welche mit fallender Wellenlänge von einem Minimum bei 2300 Å ansteigt, 2. Eiweiß, aus a) der Tryptophanbande bei 2750 Å mit unspezifischer Absorption in kurzen Wellenlängen, b) der Tyrosinbande bei 2950 Å in alkalischer und 2750 Å in saurer Reaktion sowie unspezifischer Absorption, weit höher in alkalischer Lösung, c) übrigen Aminosäuren mit einer Absorption von unspezifischem Charakter, bei in Betracht kommenden Mengen von etwa 2500 Å ziemlich rasch steigend, und d) einigen sehr schwachen Absorptionsbanden, welche außer acht gelassen werden können, 3) aus einer rein unspezifischen, der vierten Potenz der Wellenlänge ungefähr umgekehrt proportionalen Absorption, die von der Lichtstreuung im Präparat bedingt ist. Die letzte ist bei Wellenlängen über 2600 Å unerheblich.

Abb. 1 zeigt das Absorptionsspektrum für Thyminukleinsäure, $0,5 \cdot 10^{-10}$ mg pro μ^2 , Tryptophan in saurer Lösung in gleicher Menge, sowie Tyrosin in saurer und alkalischer Lösung (10^{-10} mg pro μ^2). (Die Tyrosin- und Tryptophanwerte sind aus den Werten von HOLIDAY umgerechnet). Die untere Kurvengruppe ist die durch graphische Differentiation gewonnene Ableitung der oberen. Der berechnete Verlauf der Tyrosinabsorption bei verschiedenen Verhältnissen zwischen dem dissoziierten und undissoziierten Teil geht aus Abb. 2 hervor.

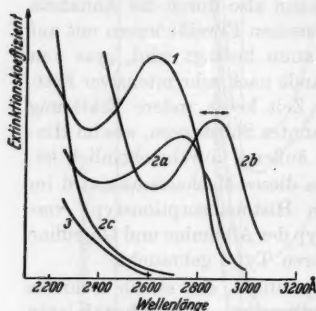


Abb. 5. Schema über die wichtigsten Komponenten der Absorptionskurven. Kurve 1 Nukleinsäure, 2a Tryptophan, 2b Tyrosin (bewegliches Maximum, vgl. Abb. 2), 2c übrige Aminosäuren, 3 unspezifische Absorption.

Die oben angeführte Ansicht, daß die Lage des Tyrosinmaximums in saurer Lösung von der Menge der an Tyrosingruppen gebundenen basischen Aminosäuren beeinflusst wird, führt ein spezielles Moment in die Analyse ein. Theoretisch betrachtet sollten 6 Punkte der Kurve genügen, um die vollständige Analyse durchzuführen. Dies setzt, auf Grund der unbedeutenden Größe der Differenzen, eine Exaktheit bei den einzelnen Bestimmungen voraus, welche sich nicht erreichen läßt; ein kleiner Fehler in einem einzigen Punkt würde das ganze Resultat vollkommen verschieben, ohne die geringste Möglichkeit, festzustellen, welche Werte wahrscheinlich sind. Die Möglichkeit eines der-

artigen Fehlers läßt sich bei Messungen mit einer derartig komplizierten Apparatur wie der hier verwendeten niemals ausschließen. Außerdem ist die Form der unspezifischen Absorptionen, derjenigen der acyclischen Aminosäuren und der Lichtstreuung, nicht exakt bekannt. Deshalb wurde ein Verfahren mit schrittweiser Analyse zur Anwendung gebracht. Die gemessene Kurve wird graphisch zusammen mit ihrer abgeleiteten Kurve aufgezeichnet, die mit Gradplatte in einer geeigneten Anzahl von Punkten in nach Gutdünken gewählten Einheiten bestimmt wird. Wie die Meßkurve die Summe der Absorptionskurven der enthaltenen Komponenten darstellt, so ist die Ableitung der Meßkurve in jedem Punkt die Summe der Ableitungen der Komponentkurven. Während keine der Komponentkurven unter 3000 Å bis zur Nulllinie herabgeht, so daß diese in keinem Punkt außer acht gelassen werden kann, ist der Wert der abgeleiteten Kurven in jedem Maximum und Minimum Null, d. h. in ihrem Maximum oder Minimum beeinflusst eine Komponentkurve die Steigung der resultierenden Kurve ganz und gar nicht, da ihre eigene ja Null ist. Dies bringt eine bedeutende Vereinfachung und gleichzeitig eine Kontrolle der Berechnungen mit sich. Der einzelne

Ableitungswert, das Maß der Steigung der Kurve, hängt nämlich nicht von einem einzigen Meßpunkt ab.

Aus Abb. 1 geht hervor, daß zwischen 2800 und 2950 Å die abgeleiteten Kurven sowohl für Nukleinsäuren wie für Tryptophan praktisch parallel zur Abszisse verlaufen, d. h. innerhalb dieses Gebiets sind die fallenden Äste der Kurven praktisch gerade Linien. Dieses Gebiet ist gerade das, innerhalb welchem sich das Maximum des Tyrosins verschiebt. Abb. 6 zeigt, was vor sich geht, wenn eine Absorptionsbande vom Typ des Tyrosins (3) eine linear steigende Absorption (2) überlagert. Abhängig von der Steigungsgeschwindigkeit von Kurve 2 wird sich das Maximum der Resultantenkurve (1) in verschiedenem Grade verschieben. In dem hier vorliegenden Fall ist diese Geschwindigkeit nicht bekannt, weshalb sich die Lage des Tyrosinmaximums nicht direkt aus der Meßkurve bestimmen läßt. Die abgeleitete Kurve des Maximums (4) muß, wenn dasselbe einigermaßen symmetrisch ist (im eigentlichen Gipfelgebiet) und von der idealen Parabelform abweicht, einen Wendepunkt haben. Die abgeleitete Kurve 5 für die gerade Linie 2 ist eine der Abszisse parallele Gerade, unabhängig von der Steigung der Linie. Nur der Abstand derselben von der Abszisse ändert sich mit der Steigung. Die Ableitung der Resultantenkurve Kurve 6 muß folglich aus der abgeleiteten Kurve des reinen Maximums bestehen, die nur parallel aufwärts oder abwärts verschoben wird. Der Wendepunkt wird sich natürlich hierbei nicht ändern, sondern gibt nach wie vor die Stelle des Maximums der Komponentenkurve (3) an. Auf diese Weise läßt sich direkt aus der abgeleiteten Kurve der Meßkurve der Ort für das Maximum des Tyrosins ableiten, unabhängig von der Menge anderer enthaltener Substanzen. Die Steigung der abgeleiteten Kurve im Wendepunkt ist, wie man leicht einsieht, der Menge von selektiv absorbierender Substanz proportional, weshalb der Wert der zweiten Ableitung ($\text{tg } \alpha$) in diesem Wendepunkt ein Maß der Menge des enthaltenen Tyrosins ist. Es ist jedoch schwierig, dies mit genügender Exaktheit zu bestimmen, weshalb es nur als Kontrolle verwendet wird.

Wenn die Lage für das Maximum des Tyrosins bestimmt ist, kann die zugehörige Kurvenform aus Abb. 2 entnommen werden. Über 2600 Å

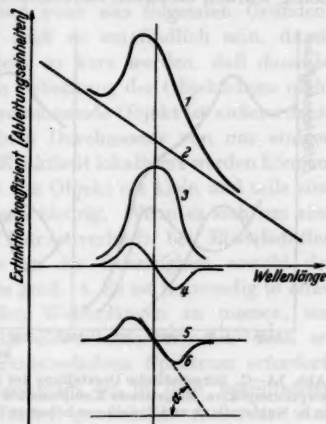


Abb. 6. Siehe Text.

können in der Regel die oben unter 3 und 2c angeführten Absorptionen unberücksichtigt gelassen werden. (Dies ist zulässig, wenn die Absorptionskurve bis nahe an Null bei 3100 Å herabgeht. Die unspezifischen Absorptionen steigen nämlich so langsam, daß dieselben, wie sich berechnen läßt, nur kaum 2mal so groß bei 2600 Å sein können). Es bleiben dort nur die drei Komponenten Tyrosin, mit bekanntem Kurvenverlauf, Tryptophan und Nukleinsäure übrig, und aus drei Punkten der Absorptionskurve lassen sich die Höhen der drei Kurven berechnen. Gleichzeitig wurden dieselben Berechnungen mit Hilfe der abgeleiteten Kurven

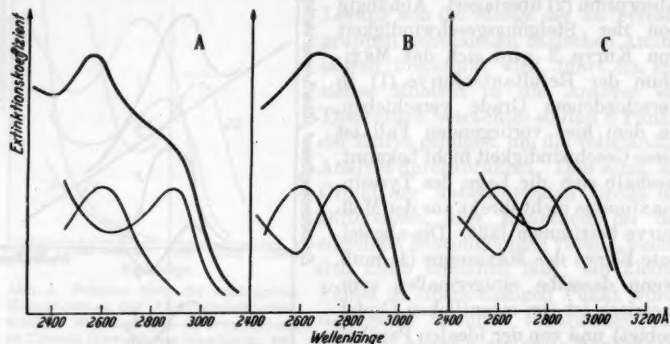


Abb. 7A—C. Schematische Darstellung der drei wichtigsten Typen von Absorptionsspektren. Eingehende Komponenten in A: Nukleinsäure und Eiweiß vom Histontyp, in B: Nukleinsäure und Eiweiß von höherem Typ, in C: Nukleinsäure und Eiweiß beider Typen.

so vorgenommen, daß eine möglichst große Anzahl von Punkten in die Berechnungen einbezogen wurde, was aus den oben angegebenen Gründen zu empfehlen ist.

Abb. 4 sowie die beiden Typkurven A und B in Abb. 7 geben zwei wichtige Haupttypen an: Nukleohiston sowie Nukleinsäureeiweißsalz mit Albumincharakter des Eiweißes. Schon für das Auge tritt ein distinkter Unterschied in derartigen ausgeprägten Fällen hervor. Liegt das Maximum des Tyrosins unter oder in der Gegend von 2800 Å, so wird das Eiweißmaximum praktisch völlig von dem der Nukleinsäure überdeckt und macht sich für das Auge nur als eine Verbreiterung des Nukleinsäuremaximums bemerkbar (B). Liegt das Tyrosinmaximum nur 50—100 Å davon entfernt, so befreit sich das Eiweißmaximum von dem Nukleinsäuremaximum und tritt deutlich als ein Hügel am fallenden Teil der Kurve oder sogar als ein flaches separates Maximum hervor (A). Das Aussehen der Nukleinsäurebande ist auch typisch, im ersteren Falle verbreitert und nach der langwelligen Seite verschoben, im zweiten schmal, etwas zugespitzt und in ausgeprägten Fällen oft auf Grund des rasch steigenden

unspezifischen Absorptionsschenkels der dissoziierten Form des Tyrosins nach der kurzwelligen Seite verschoben.

Diese Typkurven zeigen auch, daß Meßwerte mit einem Abstand von höchstens 50 Å erforderlich sind, damit die Einzelheiten genügend deutlich hervortreten.

Methodik.

Die Messung der Ultraviolettabsorption von Chromosomeneinheiten zum Zweck der Aminosäureanalyse stellt beträchtliche Ansprüche an die verwendete Meßmethodik, und zwar aus folgenden Gründen: 1. Die Lichtregistrierungsanordnung muß so empfindlich sein, damit die Exponierungszeiten für das Objekt so kurz werden, daß dasselbe trotz der notwendigerweise intensiven Belichtung der Objektebene nicht geschädigt wird (s. Punkt 2). 2. Das zu messende Objekt ist außerordentlich klein, so daß der Meßpunkt einen Durchmesser von nur einigen Zehntel μ hat, und muß mit derselben Exaktheit lokalisiert werden können. 3. Die Absorption ist niedrig, teils ist das Objekt oft klein und teils sind die Absorptionen der Eiweißsubstanzen niedrig. Wenn es sich um eine ins einzelne gehende Analyse des Kurvenverlaufs bei Eiweißstoffen handelt, werden die Anforderungen an die Genauigkeit sowohl der Messung wie der Reinigung des Lichts groß. 4. Es ist notwendig in einer Serie von nahe aneinander liegenden Wellenlängen zu messen, um einen genügenden Detailreichtum der Eiweißabsorptionskurve zu erzielen, was eine Lichtquelle mit kontinuierlichem Spektrum erfordert. Auch das linienreiche Quecksilberspektrum ist in dem betreffenden Gebiet bei weitem nicht allen Ansprüchen gewachsen. Außerdem sind die Anforderungen an spezifische Intensität enorm, da der Meßpunkt so klein ist und man ja mittels eines optischen Systems nicht eine spezifische Intensität erreichen kann, welche die der verwendeten Lichtquelle übersteigt.

Bei diesen Messungen kann natürlich nur eine photoelektrische Meßtechnik zur Anwendung gelangen, da die Genauigkeit einer photographischen Methode (s. CASPERSSON 1936) viel zu niedrig ist. Die verwendete Apparatur ist in dieser Zeitschrift früher in etwas einfacherer Form (Lichtquelle, Sektoranordnung) beschrieben worden (CASPERSSON 1939, auch 1937 und 1938) und ins einzelne gehende Beschreibungen sind am Cytologen-Kongreß in Zürich 1939 und im *J. microsc. soc.* 1939, aus welchem Abb. 8 entnommen ist, erstattet worden.

Die einzige Lichtquelle, welche in Betracht kommen kann, ist eine Hochdruck-quecksilberlampe. Um eine genügend kontinuierliche Strahlung zu erhalten muß dieselbe mit hohem Überdruck brennen. Infolge der Verbreiterung der Umwendungslinie bei 2540 Å mit dem Druck muß der Abstand vom Lichtbogen zur Lampenwand möglichst kurz und diese effektiv gekühlt sein. PHILIPS wassergekühlte Superhochdrucklampe genügt diesen Anforderungen, und die Lichtintensität reicht gerade für die Messungen aus. Die Anordnung geht aus der Abb. 8 hervor. A ist

die wassergekühlte Quecksilberlampe, welche in einem speziellen Träger so nahe an den Eintrittspalt angebracht ist, daß sie die Eintrittspupille des Monochromators gänzlich ausfüllt, dies um unnötige Lichtverluste im optischen System zu vermeiden. *C* ist der Spiegelmonochromator, Zeiß, Öffnungsverhältnis 1:5. Das Bild der Austrittspalte wird von einem Quarz-Flußspatachromat durch einen in geschmolzenem Quarz ausgeführten Kondensor *H* auf das Objekt *I* geworfen. Die Optik ist KÖHLER-v. ROHR'S Objektiv für Ultraviolett (*K*) sowie Okular aus

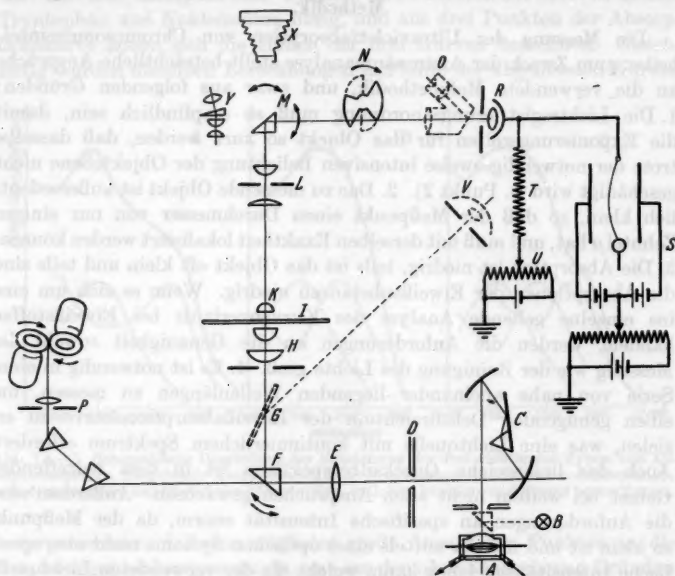


Abb. 8. Siehe Text. (Aus CASPERSSON: J. microsc. soc. 1939.)

geschmolzenem Quarz (*L*). Das Bild, welches mittels KÖHLER'S (1904) „Sucher-anordnung“ *Y* eingestellt werden kann, wird durch ein Quarzglasprisma *M* auf die Photozelle *R* (Natrium-Edelgaszelle) geworfen. *N* ist ein rotierender Sektor, der während des Gangs umgestellt und abgelesen werden kann und eine Ablesungs-genauigkeit von $\frac{1}{4} \text{ }^\circ$ gewährt. *P* ist KÖHLER'S Anordnung mit rotierender Funkenstrecke, diese wurde hier zu Messungen in den niedrigsten Wellenlängen verwendet. *X* ist eine Kamera, *O* eine Zentrierungsvorrichtung und *S*, *T*, *U* sind das Prinzipschema für die Messung des Photostroms. Diese Anordnung wechselt je nach dem Objekt. Einer der bei den Chromosomenmessungen allerwichtigsten Teile ist auf der Abbildung nicht dargestellt, und zwar der Objekthalter.

Die Messung geht so vor sich, daß das Objekt in den Halter eingebracht, der zu messende Teil in die Achse des optischen Systems eingestellt und mittels der Zentrierungsvorrichtungen auf die Photozelle projiziert wird. Dann wird das Objekt aus der optischen Achse entfernt und in die letztere ein vom Objekt freies benachbartes Gebiet im Präparat gebracht, worauf der Sektor *N* auf denselben Photostrom umgestellt wird, welcher vorher erhalten worden war. Die Durchlässigkeit

des Objekts wird direkt an der Graduierung des Sektors abgelesen. Um die Messungen in derselben und in verschiedenen Wellenlängen wiederholen zu können, muß die Objektverschiebung so exakt erfolgen, daß derselbe Punkt wieder in die Hauptachse gebracht wird. Bei Chromosomenmessungen, wo die Meßpunkte bis auf ein Zehntel μ^2 herabgehen können, muß die Verschiebung bis auf $0,1 \mu$ genau reproduzierbar sein. Dies wurde dadurch erreicht, daß die Quarzplatte mit dem Objekt in einem Träger angebracht wurde, welcher zwischen zwei Bergkristallplatten federnd aufgehängt worden war. Von einer Druckdose, deren Membran von regulierbarem Luftüberdruck gespannt wird, wird der Bewegungsimpuls über eine Pelotte auf den Träger übertragen. Wenn der Druck in der Dose mittels einer Quecksilbermanometeranordnung geändert wird, verschiebt sich der Träger, und wenn der ursprüngliche Druck wiederhergestellt wird, dann wird der Träger durch die Elastizität der Bergkristallplatten in die Ursprungslage zurückgebracht, mit der Reproduzierbarkeit, welche, wie oben ausgeführt wurde, notwendig ist. Daß die Reproduzierbarkeit ausreichend ist, wurde in besonderen Versuchen festgestellt, welche nicht wiedergegeben werden, da die hier angeführten Messungen dasselbe beweisen. Damit ist das erste der aufgestellten Postulate erfüllt. Der hohe Grad von Exaktheit in der Bewegung ist auf die ideal-elastischen Eigenschaften der Kristallplatten zurückzuführen. Es gelang nicht, einen Federstahl zu finden, welcher mit einer völligen Reproduzierbarkeit der Bewegung arbeitete — im besten Falle betrug die Reproduzierbarkeit $0,5 \mu$, war also von einer ganz anderen Größenordnung als bei den Kristallplatten.

Bei den Messungen war die Breite des verwendeten Spektralbandes unter 20 \AA , im Gebiet über 2700 \AA , wo die Eiweißbande liegt, unter 5 \AA . Um Reste von zerstreutem, sichtbarem und langwelligen Ultraviolettlicht zu entfernen, wurde ein auf der Abbildung nicht markiertes zweites Prisma aus geschmolzenem Quarz mit einem Brechungswinkel von 45° nach der Austrittspalte des Spiegelmonochromators eingefügt. Dieses fungiert mit dem Quarz-Fluöspatdichromat *E* sowie der Kondensoreintrittspalte wie ein zweiter Monochromator mit geringerer Auflösungsfähigkeit als *C*. Danach ließ sich kein Einfluß von Verunreinigungen mit fremdem Licht beobachten.

Die Apertur des beleuchtenden Strahlenbündels hielt sich bei ungefähr $0,3-0,2$, weshalb eine Korrektur wegen konischen Strahlengangs durch das Objekt nicht erforderlich ist.

Zur Erfüllung der Anforderungen 3 und 4 erwies es sich in der Regel als ausreichend, mit einer einfachen Photozelle ohne Korrektur für Variationen der Lichtquelle zu arbeiten, und zwar deshalb, weil die Lampe nach Abkoppelung der Hauptbelastungen des Netzes einigermaßen stabil ist und da der Sektor so ausgeführt ist, daß der Umschwing zwischen den beiden Meßmomenten binnen einigen Sekunden stattfinden kann, einer Zeit, während welcher die Schwankungen der Lichtquelle verschwindend gering sind. Die Zweizellenkopplungen haben gewisse Nachteile, vor allem den der beträchtlich längeren Beleuchtungsdauer des Objekts, welches dieselben weniger geeignet erscheinen läßt. Die Saitenelektrometerkopplung besitzt einen großen Vorteil in der Geschwindigkeit, welche die Exponierungszeiten sehr kurz macht, in der Regel etwa 10 Sek. mit einem Elektronenstrom von 1 bis 10 Mill. Elektronen pro Sekunde. Da die Photozelle, um die kürzeste Exponierungszeit zu erreichen, eine gasgefüllte Natriumzelle ist, welche nahe an der Glühspannung arbeitet, muß die Anzahl der primären Photoelektronen schätzungsweise 100mal niedriger liegen. Die Messungen sollen eine Exaktheit von $0,1\%$ gestatten, woraus hervorgeht, daß schon die Zeitunterschiede in der statistischen Elektronenverteilung eine nennenswerte Steigerung der Empfindlichkeit verhindern. Auf Grund dieser Faktoren würde eine Vermehrung der Empfindlichkeit auf das 10fache und darüber, d. h. eine Verkürzung der Belichtungsdauer auf $\frac{1}{10}$ die absolute Grenze des Zulässigen darstellen. Diese wurde sowohl mittels Verstärkeranordnung

(CASPERSSON 1937/38) wie empfindlicheren Elektrometers erzielt. Der große Nachteil der Verstärkeranordnung liegt darin, daß sich diese nicht genügend gegen Störungen durch den Funken in der KÖHLERSchen Beleuchtungsanordnung abschirmen läßt und in Kombination mit dieser unbrauchbar ist. Auch sonst hat dieselbe bis auf den Preis durchaus keine Vorteile gegenüber den modernen Elektrometern (LEYBOLDs neuere HOFFMAN-Elektrometer) und ist zudem weit schwieriger zu handhaben. Das Vakuum-Duant-Elektrometer nach HOFFMAN gestattete bei bequemer Arbeitsweise eine Empfindlichkeitserhöhung auf das 10fache, bei fast derselben leichten Handhabung wie mit dem LUTZ-EDELMANNschen Saitenelektrometer. Bei Arbeiten innerhalb des langwelligen Gebiets ist dies ein großer Vorteil, welcher in einem anderen Zusammenhang ausgenützt wird, aber unter 3000 Å ist leider dieser Vorteil bei den in diesem Fall in Betracht kommenden starken Vergrößerungen illusorisch, da die Einstellung in jeder Wellenlänge sich nicht in kürzerer Zeit als etwa 10 Sek. bewerkstelligen läßt, und setzt man die Lichtstärke auf ein Zehntel herab, dann erfordert ja diese Prozedur in entsprechendem Grade längere Zeit.

Die *Schlußfolgerung* aus diesem Experiment mit verschiedenen Verfahren ist also, daß mit den Photozellen, welche zur Zeit verfügbar sind, das LUTZ-EDELMANNsche Saitenelektrometer praktisch die Ausrüstung darstellt, welche die Anforderungen an Genauigkeit und Schnelligkeit bei den Objekten, um welche es sich hier handelt, am besten erfüllt. Die statistischen Unregelmäßigkeiten im Elektronenstrom ziehen unmittelbar unterhalb des Verwendungsgebiets der Saitenelektrometernkombination eine Grenze. Diese Grenze läßt sich mittels des HOFFMAN-Elektrometers mit ausreichen^{der} Exaktheit und einer Stabilität erreichen, welche alle Verstärkeranordnungen bei weitem übertrifft. Da die Grenze von Unregelmäßigkeiten im Photoelektronenstrom bestimmt wird, wäre natürlich jeder Versuch, beispielsweise mit Zählröhren weiter vorzudringen, sinnlos.

Messungen an Speicheldrüsenchromosomen (*Drosophila melanogaster*, gt w^a).

Die Drüsen wurden in RINGERScher Lösung disseziert, in 50%ige Essigsäure gebracht, in welcher sie etwa 1 Min. liegengelassen wurden, worauf die Essigsäure durch 50%ige Essigsäure mit 1,25% Lanthanacetat ersetzt und das Präparat ausgestrichen wurde. Lanthan ist ein ausgezeichnetes Fällungsmittel für Polynucleotide (HAMMARSTEN und TEORELL 1928). Dasselbe hat keine selektive Absorption über 2000 Å. Diejenigen Oberflächen des Chromosoms, welche in die Photozelle projiziert wurden, hatten einen Durchmesser von ungefähr 0,2 μ . Die Messung erfolgte gegen ein freies Gebiet innerhalb eines Umkreises von 5 μ , vom Meßpunkt aus gerechnet.

Abb. 9 zeigt eine Gruppe von Kurven von der Chromozentrumregion. Die ausgeprägte Chromomerenstruktur des Chromozentrums übt keinen Einfluß auf die Messung aus, da der Meßwert ja ein Wertmaß des totalen Lichtverlustes in der optischen Achse gibt, also dessen, was bei der Passage durch das gesamte Objekt absorbiert wird. Das Präparat ist so dick, daß mehrere Schichten von Chromomeren passiert werden, und da dieselben regellos verteilt sind, wird der Meßwert ein Durchschnitt.

Sämtliche Kurven haben den charakteristischen zweigipfligen Verlauf. Die abgeleiteten Kurven zwischen 2800 und 3000 Å sind unten

eingezeichnet. Sämtliche haben ein Gebiet um 2900 Å, in dem die Kurve praktisch gerade verläuft, und in welchem sich ein Wendepunkt befindet. Innerhalb dieses Gebiets liegt also der Gipfel des Tyrosinmaximums, was nach dem oben angeführten bedeuten muß, daß der Hauptteil, nach Abb. 2 wenigstens $\frac{3}{4}$ des Tyrosins in der Phenolgruppe dissoziiert ist.

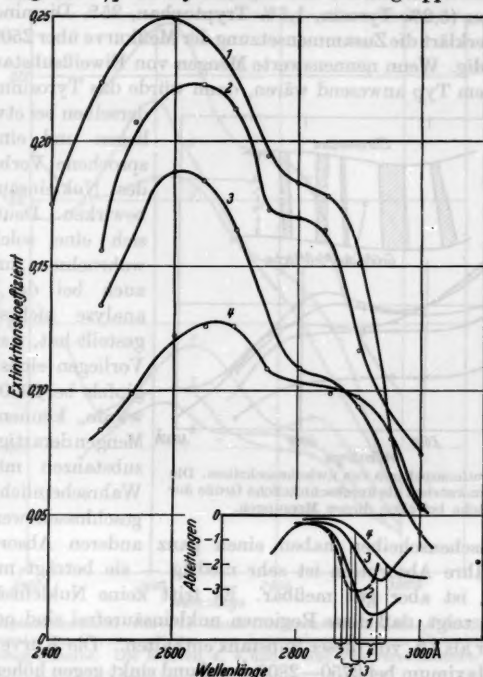


Abb. 9. Absorptionsspektren von Chromozentren. Rechts unten befinden sich die abgeleiteten Kurven. Ihre waagerechten Gebiete gruppieren sich um 2900 Å (zwischen 2870 Å und 2930 Å).

Die Eiweißsubstanz im Chromozentrum scheint also ausgesprochen basischen Charakter haben.

Die nähere Analyse von Tyrosin, Tryptophan und Nukleinsäure ergibt als Durchschnitt eine Menge von $0,15 \cdot 10^{-10}$ mg Tyrosin, $0,05 \cdot 10^{-10}$ mg Tryptophan und $0,8 \cdot 10^{-10}$ mg Nukleinsäure, berechnet als Natriumthymonukleat, pro Quadratmicron. Die Schichtdicke ist nicht genau bekannt, weshalb die relativen Konzentrationen nicht bestimmt werden konnten. Dieselbe dürfte bei etwa 3μ liegen. Nimmt man eine Eiweißkonzentration von 10% an, dann würden diese Werte einem

Gehalt von 6% Tyrosin und 2% Tryptophan im Eiweiß entsprechen, d. h. einem ziemlich tyrosin- und tryptophanreichen Eiweißstoff, mit derselben Proportion dieser Aminosäuren wie in den Serumeiweißsubstanzen. Dies sowie der basische Charakter entspricht völlig der durchschnittlichen Zusammensetzung von Histonen, beispielsweise dem Thymushiston (5,2% Tyrosin, 1,5% Tryptophan, 25% Diaminosäuren). Die Analyse erklärt die Zusammensetzung der Meßkurve über 2500 Å ziemlich vollständig. Wenn nennenswerte Mengen von Eiweißsubstanzen von nichtbasischem Typ anwesend wären, dann würde das Tyrosinmaximum

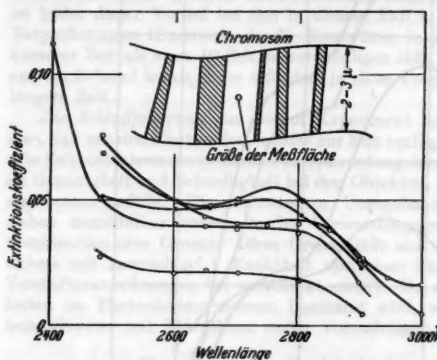


Abb. 10. Absorptionsspektren von Zwischenscheiben. Die Skizze oben demonstriert die durchschnittliche Größe der Meßfläche bei allen diesen Messungen.

derselben bei etwa 2800 Å liegen und eine ausgesprochene Verbreiterung des Nukleinsäurebandes bewirken. Deutlich läßt sich eine solche nicht wahrnehmen, und da sich auch bei der Kurvenanalyse nichts herausgestellt hat, was auf das Vorliegen eines Tyrosingipfels bei 2800 Å deuten würde, können größere Mengen derartiger Eiweißsubstanzen mit großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden.

Die Zwischenscheiben haben einen ganz anderen Absorptionstyp (Abb. 10). Ihre Absorption ist sehr niedrig — sie beträgt nur wenige Prozent —, ist aber gut meßbar. Es tritt keine Nukleinsäurebande hervor, was zeigt, daß diese Regionen nukleinsäurefrei sind oder jedenfalls weniger als 1% von dieser Substanz enthalten. Die Kurve weist ein distinktes Maximum bei 2750—2800 Å auf und sinkt gegen höhere Wellenlängen hin rasch ab. Es existieren daher keine Anhaltspunkte für die Annahme von speziell basischen Eiweißkörpern, sondern die Hauptmasse muß aus Eiweißsubstanzen von anderem Typ bestehen. Das Verhältnis von Tyrosin zu Tryptophan sowie die Mengen dieser Aminosäuren, wenn man annimmt, daß die Eiweißkonzentration bei ungefähr 10—15% liegt, und das Fehlen des basischen Charakters läßt diese Eiweißsubstanzen den gewöhnlichen höheren Eiweißstoffen der Albumin-Globulingruppe am ähnlichsten erscheinen. Nur eine approximative Bestimmung ist infolge der niedrigen Absorption — im Maximum nur bei etwa 10—15% — möglich. Natürlich kann nicht ausgeschlossen werden, daß es sich hier um spezielle Eiweißstoffe mit sonst von Albuminen und Globulinen abweichenden Eigenschaften handelt, aber bis

auf weiteres wird hier die Bezeichnung „Eiweiß von höherem Typ“ verwendet. Auffallend ist der Unterschied zwischen dieser oder diesen Eiweißsubstanzen und denjenigen vom „Histontyp“ im Chromozentrum. Ob die Eiweißstoffe in verschiedenen Zwischenscheiben verschiedene Zusammensetzung haben, darüber gibt die Absorptionskurve natürlich

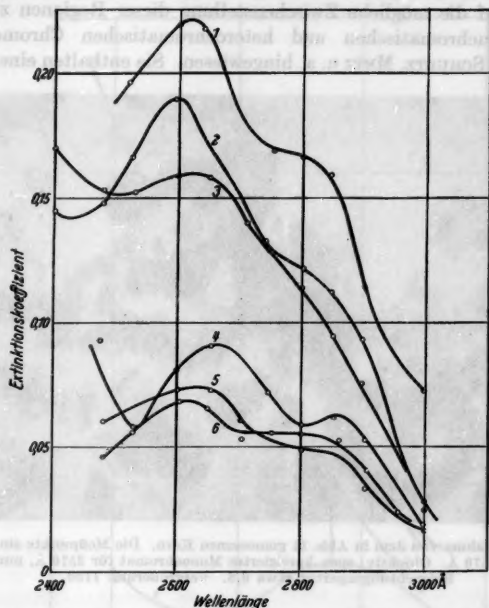


Abb. 11. Absorptionsspektren von: 1: einem Chromozentrum (vgl. Abb. 12), 2: einem Chromosomenansatz am Chromozentrum von heterochromatischem Charakter, 3: einer euchromatischen Scheibe. Die Kurven 4, 5 und 6 sind von verschiedenen „Puffs“.

keinen Aufschluß — sie vermittelt ja nur einige Hauptzüge der Zusammensetzung.

Diejenigen Teile der Chromosomen, welche eine an das Chromozentrum erinnernde Struktur haben, scheinen eine Zusammensetzung zu haben, die der des Chromozentrums ähnlich ist. Abb. 11 zeigt die Absorptionsspektren von einer chromatischen Scheibe des Euchromatins sowie von einem Chromosomenarm nahe seiner Insertion im Chromozentrum, innerhalb eines Gebiets, welches auf der BRIDGESchen Karte in einer heterochromatin-ähnlichen Weise gezeichnet ist. Abb. 13 zeigt die vollständige Analyse eines entsprechenden Teiles des Chromosoms 4. Beide Kurven zeigen distinkt, daß innerhalb dieses Gebiets erhebliche Mengen Eiweißsubstanzen von Histonabsorptionstyp vorhanden sind. In

Chromosom 4 ist das weniger ausgesprochen; Lage und Breite des Maximums zeigen, daß auch andere Eiweißstoffe von höherem Typ eingehen. Die Chromozentrumsinsertionskurve gibt dagegen nur Andeutungen hiervon.

Die Kurven 4, 5 und 6 in Abb. 11 zeigen Absorptionsspektren von „Puffs“. Auf die mögliche Zwischenstellung dieser Regionen zwischen eigentlich euchromatischen und heterochromatischen Chromosomenteilern haben SCHULTZ, METZ u. a. hingewiesen. Sie enthalten eine geringe

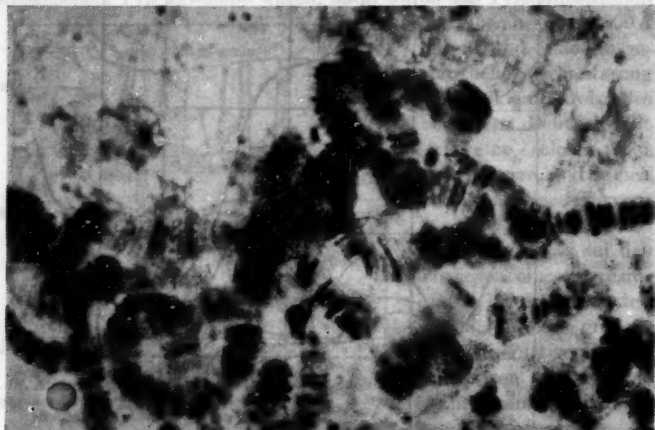


Abb. 12. Aufnahme von dem in Abb. 11 gemessenen Kern. Die Meßpunkte sind markiert. Wellenlänge 2570 Å. Objektiv: spez. korrigiertes Monochromat für 2570 Å, num. Ap. 1,25. Beleuchtungsapertur etwa 0,8. Vergrößerung 1100.

Menge von Nukleinsäuren sowie ein starkes Maximum noch bei 2900 Å, welches das Vorhandensein von Eiweiß vom Histontyp mit ungefähr derselben Tyrosin-Tryptophanverteilung wie in den heterochromatischen Regionen anzeigt. Die Tyrosinmaximumverschiebung ist größer, was ein noch stärkeres Überwiegen der basischen Aminosäuren andeutet, das nur dem Verhalten bei gewissen Nukleolen vergleichbar ist. Die chemische Zusammensetzung stützt also die oben genannte Betrachtungsweise, und deutet auch auf enge Beziehungen zum Nukleolusmechanismus.

Diese chemischen Befunde zeigen eine auffallend gute Parallele zu gewissen cytologischen Beobachtungen von POULSON und METZ (1938) an *Chironomus* und *Sciara*. Sie sahen in „puffs“ und „bulbs“ extreme Formen von der Neigung des Heterochromatins, in sich achromatisches Material zu sammeln. Ihre Beobachtung, daß diese Ansammlung ohne irgendwelche Verkürzung des Chromosoms geschieht, ist im guten Einklang mit der unten gemachten Annahme, daß Zwischenscheiben und

Nukleolarsubstanz telophasische Produkte von den beiden Chromatinarten sind. Die engen Beziehungen zum Nukleolarmechanismus werden auch von BAUERS Chironomiden-Beobachtungen gestützt, wo er einen kontinuierlichen Übergang zwischen Nukleolarsubstanz und intrachromosomaler Substanz findet und hervorhebt.

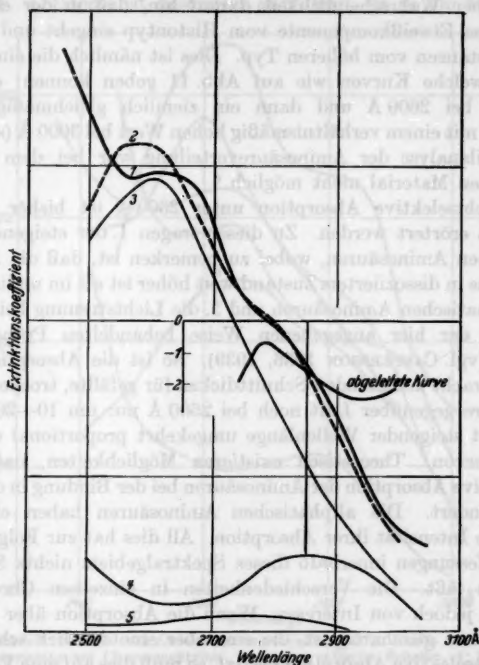


Abb. 13. Analyse vom heterochromatischen Teil des Chromosoms 4 (nahe an der Chromozentromansatzstelle). Kurve 1: Meßkurve, 3: Nukleinsäurekomponente, 4: Tyrosinkomponente, 5: Tryptophankomponente, 2: Summe der Komponenten. Ergebnis: Tyrosinmaximum bei 2850 Å, d. h. ziemlich weit nach rechts verschoben, also von Histontyp Eiweiß. Tyrosinmenge etwa $0,1 \cdot 10^{-10}$ mg, Tryptophanmenge $0,04 \cdot 10^{-10}$ mg, Thymonukleinsäuremenge $0,6 \cdot 10^{-10}$ mg pro μ^2 . Die Übereinstimmung ist bis 2750 Å gut, darunter schlecht, was die Anwesenheit von etwas Eiweiß, mit kurzwelligerem Absorptionsmaximum, d. h. Eiweiß von höherem Typ, anzeigt.

Die nukleinsäurereichen euchromatischen Scheiben bieten bei der Analyse Schwierigkeiten. Es ist schwierig, zur Detailanalyse genügend sichere, reproduzierbare Werte für die dickeren Scheiben zu erhalten, da dieselben eine dermaßen hohe Absorption haben und da die absorbierende Nukleinsäure in einem so scharf begrenzten kleinen Gebiet angesammelt ist, daß sogar eine Genauigkeit der Objektverschiebung

von $0,1 \mu$ gerade noch ausreicht. Die Absorptionsspektren von konfluierenden Gruppen dichtliegender Bänder, welche man in schlechten Präparaten erhält, zeigen natürlich das Nukleinsäureband sowie Eiweiß vom höheren Typ der Zwischenscheiben. Diejenigen Kurven, welche als am wahrscheinlichsten zu betrachten sind, deuten indessen mit beträchtlicher Wahrscheinlichkeit darauf hin, daß in der eigentlichen Scheibe eine Eiweißkomponente vom Histontyp eingeht und außerdem Eiweißsubstanzen vom höheren Typ. Dies ist nämlich die einzige Kombination, welche Kurven wie auf Abb. 11 geben können: ein breites Maximum bei 2600 \AA und dann ein ziemlich gleichmäßig fallender Kurvenast mit einem verhältnismäßig hohen Wert bei 3000 \AA (s. Abb. 7c). Eine Detailanalyse der Aminosäureverteilung war bei dem bisherigen beschränkten Material nicht möglich.

Die nichtselektive Absorption unter 2600 \AA ist bisher überhaupt noch nicht erörtert worden. Zu dieser tragen 1. der steigende Ast der aromatischen Aminosäuren, wobei zu bemerken ist, daß die Absorption des Tyrosins in dissoziiertem Zustand weit höher ist als im undissoziierten, 2. die aliphatischen Aminosäuren und 3. die Lichtstreuung bei Faktor 3 ist bei in der hier angegebenen Weise behandelten Präparaten unerheblich (vgl. CASPERSSON 1936, 1939). So ist die Absorption bei den hier in Betracht kommenden Schnittdicken für gefällte, trockene Thymonukleinsäure gegenüber Luft noch bei 2500 \AA nur um 10–20% erhöht, und ist mit steigender Wellenlänge umgekehrt proportional der vierten Potenz hiervon. Theoretisch existieren Möglichkeiten, daß sich die nichtselektive Absorption der Aminosäuren bei der Bindung in dem großen Molekül ändert. Die aliphatischen Aminosäuren haben eine höchst variierende Intensität ihrer Absorption. All dies hat zur Folge, daß sich zur Zeit Messungen innerhalb dieses Spektralgebiets nichts Spezifisches entnehmen läßt. Die Verschiedenheiten in einzelnen Chromosomen teilen sind jedoch von Interesse. Wenn die Absorption über 2600 \AA für zwei Regionen gleichartig ist, die eine aber eine deutlich schneller steigende nichtselektive Absorption besitzt, so muß dies auf eine Verschiedenheit in einem der drei oben angegebenen Faktoren zurückzuführen sein. Unterschiede in 1 und 3 sind unter den angegebenen Umständen weniger wahrscheinlich, weshalb diese Verschiedenheit mit großer Wahrscheinlichkeit auf Faktor 2, d. h. einen verschiedenen Gehalt an aliphatischen Aminosäuren zu beziehen ist.

Abb. 14 zeigt schematisch eine Zusammenstellung einiger der oben vollständig wiedergegebenen Kurven. Hieraus geht hervor, daß das Chromozentrum (und in den meisten Fällen die Nukleolen) eine auffallend niedrige unspezifische Absorption hat, im Vergleich zu den Chromosomenarmen — auch zu den heterochromatischen Abschnitten derselben. Bei den „Puffs“ wurden verschiedene Resultate erhalten, teils auffallend niedrige kurzwellige Absorption, teils gleichartige wie

bei anderen Chromosomenteilen. Interessant ist der Parallelismus zum Grade der Ordnung in diesen Chromosomenteilen. Die euchromatischen Teile, sowohl Scheiben wie Zwischenscheiben, haben eine hohe aliphatische Aminosäureabsorption, während dieselbe im Chromozentrum, welches nur Spuren der linearen Anordnung der Chromomeren aufweist, niedrig ist. Letzteres ist besonders auffallend, da ja die Verschiebung

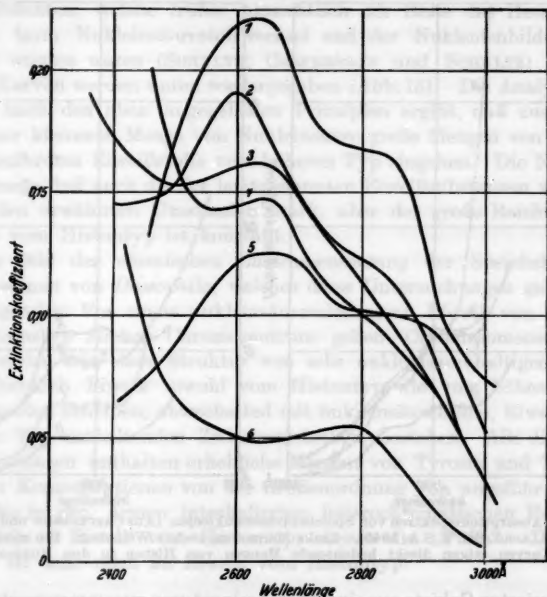


Abb. 14. Vergleich verschiedener Absorptionstypen (siehe Text). Kurve 1: Chromozentrum, 2: Chromosomansatz am Chromozentrum, 3: euchromatische Scheibe, 4: heterochromatischer Teil von Chromosom 4, 5: Chromozentrum, 6: Zwischenscheibe.

der Tyrosinabsorption gegen 2900 Å hin eine gleichartige Verschiebung der nichtselektiven Absorption dieser Substanz und damit eine Erhöhung der nichtselektiven Absorption mit sich bringt. Die in den Chromosomenarmen interkalierten heterochromatischen Regionen haben *nicht* die niedrige kurzwellige Absorption des Chromozentrums, sondern die hohe des Euchromatins. Der Chromosomansatz, unmittelbar am Chromozentrum gemessen (Abb. 11), hat eine Mittelstellung. Das Verhalten der „Puffs“ ist nicht ausreichend untersucht, scheint aber ein wechselndes zu sein. Es sind also diejenigen Kernteile mit ausgeprägt linearer Anordnung, welche eine hohe aliphatische Aminosäureabsorption haben (ungeachtet ihres eu- oder heterochromatischen Charakters), während

die ungeordneten diese vermischen lassen. Die eventuelle Zwischenstellung der Puffs sowie ihre eventuelle Rolle bei der Nukleolenproduktion (vgl. BAUER, METZ) können das inkonstante Verhalten derselben erklären. Ein hoher Gehalt an aliphatischen Aminosäuren in denjenigen Teilen, welche sich durch Strukturkonstanz auszeichnen, läßt sich am einfachsten durch die Hypothese erklären, daß durch die linear

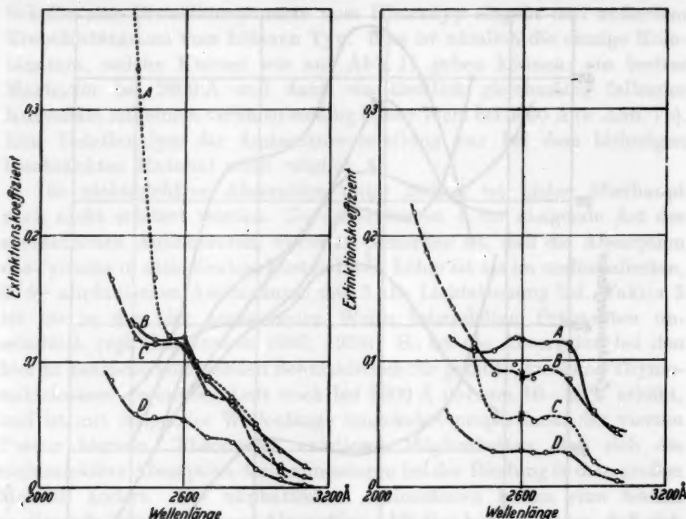


Abb. 15. Absorptionsspektren von Speicheldrüsen nukleolen. (Aus CASPERSSON und SCHULTZ Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. 1940). Links Männchen, rechts Weibchen. Die zweigipfelförmigen Kurven zeigen direkt bedeutende Mengen von Histon in den Nukleolen.

strukturierten Gebiete aus einfachen Aminosäuren zusammengesetzte Peptidketten verlaufen, welche eine Strukturgrundlage im Chromosom bilden könnten. Eine derartige Annahme würde natürlich gut mit der hypothetischen Eiweißstruktur übereinstimmen, deren Existenz von so vielen Autoren vermutet worden ist, seitdem die Theorie von der linearen Anordnung der Gene aufgestellt wurde. Die Ultraviolettabsorption vermag jedoch nur das Vorkommen der Aminosäuren zu demonstrieren; ob dieselben in Peptidbindungen an andere Eiweißkomplexe gebunden sind oder als gerade oder gefaltete protaminähnliche Peptidketten verlaufen, das läßt sich nicht entscheiden.

Absorptionsspektren des Nukleolus der Speicheldrüsenzelle sind von SCHULTZ und Verf. gelegentlich von Untersuchungen des Nukleinsäurestoffwechsels der Zelle aufgenommen worden. Sie fanden, daß dieselbe eine Nukleinsäurekomponente enthält, welche, wie schon bei der Nerven-

zellennukleole nachgewiesen worden war (LANDSTRÖM, CASPERSSON und WOHLFAERT), aus *Ribose*-Nukleotiden besteht, im Gegensatz zu der typischen Chromosomennukleinsäure, die vom Desoxyribosetyp ist. Das Verhältnis von Nukleinsäure zur Eiweißsubstanz wechselte, wie sich ergab, mit der genetischen Konstitution des Kerns (CASPERSSON und SCHULTZ, 1940), speziell dem Heterochromatingehalt, in Übereinstimmung mit den Ansichten, welche früher hinsichtlich der Rolle des Heterochromatins beim Nukleinsäurestoffwechsel und der Nukleolenbildung geäußert worden waren (SCHULTZ; CASPERSSON und SCHULTZ). Einige dieser Kurven werden unten wiedergegeben (Abb. 15). Die Analyse derselben nach den oben angegebenen Prinzipien ergibt, daß zusammen mit einer kleineren Menge von Nukleinsäure große Mengen von Histon sowie außerdem Eiweißstoffe vom höheren Typ eingehen. Die Nukleinsäuremenge und auch die der letztgenannten Eiweißsubstanzen wechselt unter den erwähnten Umständen stark, aber der große Reichtum an Eiweiß vom Histontyp ist konstant.

Das Bild der chemischen Zusammensetzung der Speicheldrüsenchromosomen von *Drosophila*, welches diese Untersuchungen geben, ist also folgendes: Von einem nukleinsäurereichen, an Eiweiß von Histonabsorptionstyp reichen Chromozentrum gehen Chromosomenschenkel aus, welche aus einer Struktur von sehr nukleinsäurehaltigen, auch wahrscheinlich Eiweiß sowohl vom Histontyp wie vom höheren Typ enthaltenden Scheiben, abwechselnd mit nukleinsäurefreien, Eiweiß vom höheren Typ enthaltenden Zwischenscheiben, bestehen. Alle diese Eiweißsubstanzen enthalten erhebliche Mengen von Tyrosin und Tryptophan in Konzentrationen von der Größenordnung von ungefähr 5 bzw. 2%. Die in den Armen interkalierten heterochromatischen Regionen sind reich an Eiweiß vom Histontyp, ebenso die „Puffs“. Der Nukleolus ist sehr reich an Eiweiß vom Histontyp.

Der Speicheldrüsenkern als Ruhekern.

In welchem Maße dieser Kernbau als Schema für andere Zellen verwendbar wäre, beruht in erster Linie darauf, wie die Speicheldrüsenzelle zu betrachten ist. Diese Frage ist für die Möglichkeit, MIESCHERS und KOSSELS chemische Daten auf den Zellteilungsmechanismus zu beziehen, von großer prinzipieller Bedeutung. Daß die Kernstrukturen dabei als mit Chromosomen homolog anzusehen sind, wurde ja durch die Pionierarbeiten von HEITZ und BAUER sowie auch PAINTER demonstriert. Von dem Stadium im Teilungszyklus, auf welches man sie zurückführen könnte, betont beispielsweise BAUER, daß es sich um Ruhekerne handelt und die Speicheldrüsenchromosomen höchstens mit der allerfrühesten Prophase, nicht mit irgendwelchen späteren Mitosephasen vergleichbar wären. Zwei verschiedene Möglichkeiten liegen offenbar vor, welche jedoch nicht in gegensätzlichem

Verhältnis zueinander zu stehen brauchen: Die erste ist, daß der Kern als ein im frühen Prophasestadium stehenbleibender Kern mit der Eigentümlichkeit, daß er wie ein gewöhnlicher Ruhekern fungiert, zu betrachten ist (DARLINGTON: permanent prophase). Bei der zweiten macht der Kern die gewöhnliche Entwicklung in der Telophase durch, aber mit der Besonderheit, daß die Tendenz zur somatischen Paarung in den euchromatischen Chromosomenteilen so stark ist, daß die lineare Anordnung nicht durchbrochen wird. Die erste Möglichkeit läßt sich schwer damit in Einklang bringen, daß die Speicheldrüsenzelle durchaus nicht die Tendenz anderer prophasischer Zellen hat, ihre Funktionen einzustellen, was man sich als auf Inaktivierung der Gene während der Mitose beruhend gedacht hat, sondern wie andere Zellen im Organismus funktioniert, sich differenziert, cytoplasmatische Produkte hervorbringt usw. Die zweite Auffassung erklärt dies und setzt zudem nur ein hypothetisches Moment voraus, gegen zwei im ersteren Falle. Dies ist die exzessive somatische Paarung, ein Phänomen, welches in geringerem Grade bereits früher bei den betreffenden Dipteren auch in anderen Kernen beobachtet worden ist.

FROLOVA (1938) untersuchte die Entwicklung der Kerne in den Speicheldrüsen verschiedener *Drosophila*-Arten und verglich dieselbe mit der Kernentwicklung in anderen Organen. Es ergab sich, daß sich sämtliche Kerne in prinzipiell derselben Weise entwickelten und daß sich kein essentieller qualitativer Unterschied zwischen gewöhnlichen ruhenden Kernen und den Speicheldrüsenkernen beobachten ließ. Die Kerne beispielsweise von Fettkörper, Darm und Oenocyten unterschieden sich nicht von frühen Entwicklungsstadien der Speicheldrüsenchromosomen. Der Umstand, daß Kerne von so weit verschiedenen Organen, welche, wie man annehmen muß, auf spezifische Art fungieren, prinzipiell denselben Bau wie die der Speicheldrüse haben, stützt die Annahme, daß die Speicheldrüsenkerne als ganz gewöhnliche *Interphasen*-Kerne zu betrachten seien.

Faßt man den Speicheldrüsenkern als einen reinen Interphasenkern auf, dann liegt die Annahme nahe, daß die Zwischenscheiben die unmittelbaren Produkte der Tätigkeit der Gene sind. In diesem Falle müssen die chromatischen getragenden Bänder im Laufe der Entwicklung der Zelle wenig an Dicke zunehmen und am Ende derselben, wenn die Frequenz der Endomitose, d. h. die Genreduplikationsgeschwindigkeit, sinkt, weniger Thymonukleinsäure enthalten, was, wie SCHULTZ und Verf. nachgewiesen haben, der Fall ist. Außerdem müssen während der Entwicklung gerade die Zwischenscheiben immer mehr an Höhe zunehmen, was, wie mittels einer großen Serie von Ultraviolett-mikrophotographien von Speicheldrüsenzellen verschiedenen Alters nachgewiesen wurde, ebenfalls der Fall ist. Die Ansicht, daß das Längenwachstum der Chromosomen hauptsächlich auf eine Zu-

nahme dieser Regionen zurückzuführen sei, scheint auch COOPER (1938) zu vertreten.

Daß die Entspiralisierung mit folgendem gleichförmigen endomitotischen Wachstum nicht dazu ausreicht, das Verhältnis zwischen Metaphasenchromosomen und Speicheldrüsenchromosomen zu erklären, ist mehrfach betont worden. Man muß ein spezielles Längenwachstum annehmen (METZ und LAWRENCE 1937, BRIDGES 1938; bei *Sciara* und *Simulium*: BUCK und PAINTER u. GRIFFEN, zit. nach COOPER l. c.). Dieses Längenwachstum ist erheblich und beträgt etwa das Zehnfache gegenüber der Länge in der frühen Prophase. Wenn man nach dem oben Angeführten annimmt, daß die Zwischenscheiben als mit denjenigen primären Genprodukten homolog anzusehen sind, welche in der Telophase auftreten, wenn die Chromosomen in allen anderen Zellen aufgelöst zu werden scheinen, so werden daher nur die gentragenden chromatischen Scheiben, in welchen, wie man annehmen kann, die gentragenden Elemente sich hauptsächlich in einer zur Chromosomenachse senkrechten Ebene vermehren, die eigentliche Chromosomenlänge darstellen, welche mit der Mitosechromosomen verglichen werden muß. In einem Speicheldrüsenchromosom, wo sich die Thymonukleinsäure am Tage vor der Verpuppung in den Scheiben zu vermindern begann, was nach den Anschauungen des Verf. (1939) und SCHULTZ' (1940) auf den Abschluß der Genreduplikation hindeutet, ist das Verhältnis zwischen den Höhen der Scheiben und Zwischenscheiben derart, daß ein Längenwachstum auf das Zehnfache durch Interkalation telophasischer Produkte gut erklärlich wäre. Das Verhältnis von Heterochromatin zu Euchromatin nähert sich bei einem solchen Vergleich auch derjenigen des Metaphasechromosoms. FROLOWA (1938) fand auch, daß die Größe des Chromozentrums von der Gesamtmenge Heterochromatin in den Chromosomen bestimmt wird, sowie daß die Menge desselben gleichsinnig mit den Euchromatinchromomeren zunimmt.

Es ist also wahrscheinlich, daß der *Speicheldrüsenkern als ein Repräsentant des Interphasenkerns im allgemeinen* betrachtet werden kann.

Messungen an Metaphasechromosomen.

Als Repräsentanten für Metaphasechromosomen wurden Chromosomen von Spermatocytenteilungsstadien bei *Chorthippus*- und *Omocestus*-Arten untersucht, da diese ein technisch leicht bearbeitbares Material darstellen. Metaphasechromosomen von *Drosophila* eignen sich ihrer geringen Größe wegen nicht gut zu Versuchen einer mehr ins einzelne gehenden Analyse des Kurvenverlaufs. Abb. 16 zeigt ein Absorptionsspektrum. Die Nukleinsäureabsorption ist eine so enorm hohe, daß die Eiweißkomponente, welche auf allen Kurven beobachtet werden kann, nur als eine Erhöhung der Absorption unter 2500 Å sowie als ein

unbedeutender Buckel an der langwelligen Seite des Nukleinsäuremaximums hervortritt. Die Nukleinsäureabsorption überwiegt dermaßen, daß es unmöglich ist, genügend exakte Werte für eine Detailanalyse zu erhalten. Aus den Kurven geht indessen hervor, daß 1. Eiweiß stets

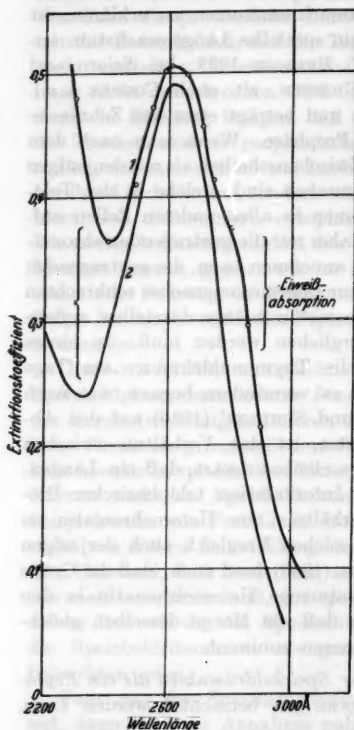


Abb. 16. Absorptionsspektrum eines Metaphasechromosoms von *Chorthippus* (Kurve 1). Kurve 2 ist eine zum Vergleich eingezeichnete beliebige Thymonukleinsäurekurve.

vorhanden ist und 2. in einer Menge von ungefähr derselben Größenordnung wie die der Thymonukleinsäure (sowohl nach der Absorption unter 2500 Å wie der über 2750 Å geschätzt), 3. zyklische Aminosäuren eingehen und 4. das Eiweißmaximum so langwellig liegt, daß Eiweißsubstanzen vom Histonabsorptionstyp, enthalten sind. Ob auch Eiweißstoffe von höherem Typ beteiligt sind, ist bis jetzt unmöglich zu entscheiden.

Die Absorptionskurve ähnelt stark derjenigen, welche die Scheiben in den *Drosophila*-Chromosomen aufweisen; die letzteren enthalten jedoch etwas mehr Eiweiß.

Messungen am Eizellkern.

Der Eizellkern weicht in so vielen Beziehungen von dem gewöhnlichen Interphasenkern ab, daß eine Serie von Messungen an Oocyten verschiedenen Alters von *Arenicola* ausgeführt wurde. Die vereinzelt Messungen welche an Seeigeleiern vorgenommen wurden, haben entsprechende Resultate ergeben. Um einen Einfluß des Cytoplasmas auszuschalten, wurden

die Eier in CARNOYScher Lösung fixiert, in Paraffin eingebettet und in 10 μ dicken Schnitten gemessen. Aus den Absorptionskurven, von denen einige auf Abb. 17 wiedergegeben werden, geht deutlich hervor, daß die Kernsubstanz Eiweißkörper sowohl von basischem wie von höherem Typ (oder einen Eiweißstoff von intermediärem Charakter) enthält. Die Konzentrationen sind niedrig. Der Nukleolus dagegen enthält Eiweiß in sehr hoher Konzentration, mit dem Maximum weit

nach der langwelligen Seite verschoben, sowie Ribosenukleotide. Das Cytoplasma enthält ebenfalls Ribosenukleotide in erheblichen Mengen. Die Kurve für die Hauptmasse des Kerns verläuft bei den einzelnen Kernen, und sogar bei einzelnen Teilen desselben Kerns etwas

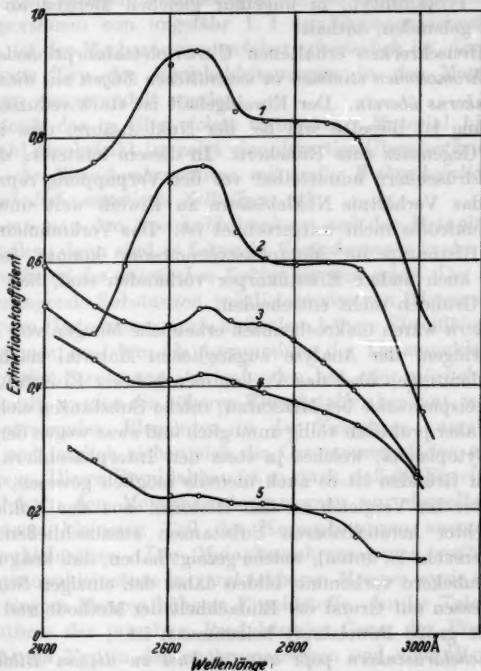


Abb. 17. Absorptionsspektrum von Elzellnukleolen (Kurven 1 und 2) und „Kernsaft“ von *Arenicola* (Kurven 3, 4 und 5). Die Kurven 1 und 2 zeigen die Anwesenheit von besonders hohen Mengen von Eiweiß von Histonsabsorptionstyp im Elzellnukleolus, außerdem ein wenig Nukleinsäure (vom Ribosetyp). Die Kurven 3, 4 und 5 zeigen, daß im Kernraum teils Eiweiße von höherem Typ (telophasische Produkte des Euchromatins) teils von Histontyp vorkommen.

verschieden, was eine Diskontinuität im Bau andeutet. Analoges Verhalten zeigen einige vom Kaninchenei aufgenommene Kurven sowie eine Messung an einem *Psammochinus*-Ei (CASPERSSON und SCHULTZ 1940).

Erörterung der Messungsergebnisse.

Die Versuche KOSSELS und seiner Mitarbeiter, welche oben ausführlich zitiert worden sind, machten wahrscheinlich, daß die Histone einen allgemein vorkommenden Kernbestandteil in tierischen Zellen darstellen.

Die Untersuchungen von Fischhoden ergaben, daß mit der Spermienreifung ein Umbau von Eiweißstoffen — aus derselben Zelle oder aus anderen Organen — Hand in Hand geht, so daß der Spermienkopf nur einfache basische Eiweißsubstanzen vom Histontyp oder bei gewissen Arten sogar Protamintyp, in ungefähr gleichen Mengen an Thymonukleinsäure gebunden, enthält.

Die an Heuschrecken erhaltenen Ultraviolettabsorptionsdaten von *Metaphasenchromosomen stimmen in wesentlichen Zügen mit diesem Bilde des Spermienkerns überein*. Der Eiweißgehalt ist stark reduziert — die Größenordnung ist dieselbe wie bei der Nukleinsäure, dies in ausgesprochenem Gegensatz zum Ruhekern. In diesem letzteren, der durch den Speicheldrüsenkern unmittelbar vor der Verpuppung repräsentiert wird, liegt das Verhältnis Nukleinsäure zu Eiweiß weit unter 1:10, wobei der Nukleolus nicht mitgerechnet ist. Das Vorkommen von Eiweiß vom Histontyp im Metaphasechromosom konnte festgestellt werden. Ob auch andere Eiweißkörper vorhanden sind, ließ sich aus technischen Gründen nicht entscheiden.

Im *Ruhekern* waren makrochemisch erhebliche Mengen von Histonen bei dem geringen, der Analyse zugänglichen Material nachgewiesen worden. Andeutungen über das Vorkommen höherer Eiweißsubstanzen findet man beispielsweise bei MIESCHER; solche Substanzen sicher nachzuweisen, ist aber praktisch völlig unmöglich und zwar wegen der Störung durch das Cytoplasma, welches ja stets den Interphasenkern umgibt. Aus analogen Gründen ist es auch niemals möglich gewesen, das Vorkommen dieser im Vergleich zu den Histonen aus der Nukleinsäurebindung leichter herauslösbaren Substanzen auszuschließen. Histochemische Versuche (s. unten), welche gezeigt haben, daß koagulierbares Eiweiß im Ruhekern vorkommt, bilden daher den einzigen Stützpunkt, welchem indessen auf Grund der Einfachheit der Methode und Klarheit der Resultate große Beweiskraft beizumessen ist.

Der Speicheldrüsenkern paßt ausgezeichnet zu diesem Bilde, indem sowohl erhebliche Mengen von höheren Eiweißsubstanzen wie Eiweiß vom Histonabsorptionstyp mit den Ultraviolettmessungen nachgewiesen wurden.

Der Hauptpunkt der von KOSSEL nachgewiesenen Veränderungen im Laufe der Spermio-genese liegt im Ab- und Umbau der Eiweißstoffe sowie in der Synthese des verhältnismäßig sehr eiweißarmen Histonoder Protaminnukleats. Woher die höheren Eiweißsubstanzen stammten — aus dem Cytoplasma oder Kern, oder sogar aus anderen Organen —, ließ sich nicht näher verfolgen.

Das Verhältnis zwischen *Ruhekern, der von dem Speicheldrüsenkern repräsentiert wird, und dem Metaphasechromosom, das durch Spermatocytenchromosomen von Heuschreckenarten dargestellt wird, weist also außerordentliche Ähnlichkeiten mit der Beziehung zwischen dem unreifen*

Hoden und den Spermien auf. Die Ähnlichkeiten der chemischen Zusammensetzung zwischen Spermium und Chromosom einerseits und Ruhekern und Hoden, welcher allmählich gänzlich in Spermien umgewandelt wird, andererseits, sind handgreiflich. Der von KOSSEL nachgewiesene Umbau von höheren Eiweißsubstanzen bis herab zu Histonen, welche in Proportionen von ungefähr 1:1 an Thymonukleinsäure gebunden werden, ist der Mechanismus, welcher erforderlich ist, damit ein aktiver Kern vom Typ des Speicheldrüsenkerns in den Metaphasechromosomentyp umgewandelt werde.

Obgleich das in Ultraviolett untersuchte Material hinsichtlich der Artanzahl beschränkt ist, zeigt eine derartige Übereinstimmung, daß das KOSSELSche Eiweißumbaueschema mit großer Wahrscheinlichkeit auch für die gewöhnliche mitotische Zellteilung gilt.

Nimmt man den Speicheldrüsenkern und das Metaphasechromosom zu Modellen, dann sind es folgende Veränderungen in den Eiweißstoffen, welche während des mitotischen Zyklus vor sich gehen: Der Ruhekern enthält gentragende Substanzen, möglicherweise von Histonnatur, basisches Eiweiß von Histonnatur sowie außerdem höhere Eiweißkörper. Während der Prophase, nachdem die Ansammlung der Thymonukleinsäure in den gentragenden Strukturen stattgefunden hat oder möglicherweise gleichzeitig damit, werden die höheren Eiweißstoffe abgebaut, welche zwischen den gentragenden Elementen in der Telophase ausgebildet worden waren, und folglich ziehen sich die Chromomerenfäden nach und nach zusammen. Dieser Eiweißabbau ist so stark, daß die Eiweißkomponenten schließlich in den Metaphasechromosomen nur denselben oder sogar einen etwas kleineren Teil der Kernsubstanzen ausmachen als die Thymonukleinsäure. Die Metaphasechromosomen enthalten Histone und Thymonukleinsäure in vergleichbaren Mengen sowie möglicherweise auch geringere Mengen höherer Eiweißstoffe. In der Telophase beginnt die Synthese der primären Produkte der Gene, der Eiweißsubstanzen von höherem Typ in den euchromatischen und vom Histontyp in den heterochromatischen Teilen. Demzufolge müssen die Chromosomen entweder anschwellen und in kleinere gentragende, chromatische Stücke, die in nichtbasophile Materie eingebettet sind, zersprengt sichtbar werden, oder, wenn die Struktur erst langsam gesprengt wird, von einer Hülle derartiger Materie umgeben erscheinen. Die Thymonukleinsäure der gentragenden Struktur beginnt abgebaut zu werden und verschwindet mehr oder weniger. Wenn wie in den Speicheldrüsenchromosomen eine endomitotische Genreduplikation eintritt, wird der Nukleinsäuregehalt beibehalten oder gesteigert. (Auch in verschiedenen Funktionsstadien während der Interphase können beträchtliche Mengen von Thymonukleinsäure auftreten.) Mit dem Fortschreiten dieser Entwicklung wird der Kern immer „chromatinärmer“. Während der folgenden Prophase werden die in der Telophase produzierten Eiweißstoffe zwischen

den tragenden Elementen wieder abgebaut, und der Prozeß wiederholt sich. Daß die lineare Anordnung der Gene trotz der Produktion von höheren Eiweißkörpern zwischen denselben beibehalten wird, ist auf die durchgehende Struktur von einfachen Eiweißsubstanzen zurückzuführen, welche nach den oben angegebenen Messungsdata wahrscheinlich die Chromosomen durchsetzen. In der Prophase kann diese, wenn sie sich in einem Gebiet befindet, wo die Eiweißstoffe rasch umgebaut werden, wie man annehmen kann, ebensowohl durch Umbau wie durch Peptidkettenkontraktion selbst verkürzt werden.

Die heterochromatischen Chromosomenregionen produzieren während der Telophase Eiweißsubstanzen vom Histonabsorptionstyp. Gleichzeitig werden Nukleolen ausgebildet. Das Heterochromatin hat im Telophasenkern nicht die streng lineare Anordnung, welche für das Euchromatin typisch ist, und die eine Bedingung für die Produktion der höheren Eiweißstoffe sein könnte. Während der telophasischen Eiweißproduktion nimmt dasselbe daher gern eine unregelmäßige Form und Struktur an. *Das Vorkommen hoher Konzentrationen von Eiweißsubstanzen des Histontyps sowohl in heterochromatischen Regionen wie im Nukleolus macht wahrscheinlich, daß der letztere zum großen Teil aus Telo- und Interphaseprodukten der ersteren besteht,* was auch von anderen Beobachtungen (s. unten) gestützt wird. Im Nukleolus sind jedoch die basischen Gruppen der Histone nur partiell mit Nukleinsäure abgesättigt (s. oben), weshalb andere Substanzen aufgenommen werden können; findet die Reaktion zwischen pH 5 und 7 statt, dann bilden sich beispielsweise Verbindungen mit höheren saureren Eiweißstoffen, weshalb Substanzen aus anderen Chromosomenteilen sehr wohl beteiligt sein können. Die Absorptionsspektren zeigten auch einen variierenden Gehalt an höheren Eiweißtypen.

Der Spezialfall des Speicheldrüsenkerns mit Riesenchromosomen zeichnet sich besonders dadurch aus, daß 1. die Gene sich endomitotisch vermehren, weshalb der Nukleinsäuregehalt der Bänder bis in späte Entwicklungsstadien hoch ist (CASPERSSON und SCHULTZ), 2. infolge der somatischen Paarung die lineare Anordnung besonders deutlich hervortritt, indem sich die telophasischen Genprodukte zwischen den tragenden Bändern als achromatische Zwischenscheiben anhäufen.

Der Spezialfall des Eizellkerns dürfte nicht einheitlich sein, sondern einige Möglichkeiten in sich schließen. Die untersuchten *Arenicola*-Kerne deuten jedoch einen grundsätzlichen Verlauf an, welcher, wie man vermuten kann, allgemeine Geltung hat. In diesem Kern haben die euchromatischen Chromosomenregionen oft ihren Thymonukleinsäuregehalt verloren, was zeigt, daß sie sich nicht weiter vermehren, obgleich der Kern wächst. Die heterochromatischen Regionen sind aufgelöst, was auf eine exzessive Funktion hindeutet. Die spezielle Funktion derselben ist von SCHULTZ und Verf. in Beziehung zu der raschen

Ribose-Polynukleotidsynthese im Cytoplasma gebracht worden, welche offenbar dicht an der Kernmembran erfolgt. Exzessive Funktion der heterochromatischen Regionen müßte nach dem Obengesagten eine große Histonproduktion mit sich bringen, welche besonders in der Nukleolarsubstanz lokalisiert ist. Außerdem müssen im Kern Produkte des Euchromatins, d. h. „höhere Eiweißsubstanzen“, vorhanden sein. Dies ist gerade, was die Kurven zeigen: Histone und höhere Eiweißstoffe in der Kernmasse, reichliche Nukleolarsubstanz mit sehr großen Mengen von Histonen. Daß der Nukleolus Ribosenukleotide enthält, dürfte mit der Rolle derselben bei der Synthese dieser Substanzen zusammenhängen (s. CASPERSSON und SCHULTZ 1940). Die Hauptmasse des Eizellkerns bilden also telophasische Produkte, die den speziellen Synthesevorgängen angepaßt sind, welche sich in diesen Zellen abspielen. Die getragenden Strukturen vermehren sich nicht, sondern treten, wenn der Kern aufgelöst wird, als Chromosomen von gewöhnlicher Größe auf. Analoge Fälle bieten beispielsweise die Nervenzellen. In diesen können große Mengen von NISSLScher Substanz vorkommen, von welcher ebenfalls nachgewiesen worden ist, daß sie Ribosenukleotide enthält (LANDSTRÖM, CASPERSSON und WOHLFART). Der große pentosenukleotidhaltige Nukleolus enthält Histon und der übrige große Kern ist sehr hell und chromatinarm, ohne deutliche heterochromatische Regionen. Wie die Eizellen sind diese Zellen durch ihre besondere Größe gekennzeichnet.

Das Auftreten großer, stark histonhaltiger Nukleolarsubstanzmassen in Zellen mit hochgradiger Nukleinsäureproduktion ist ja eine interessante Parallele zum Verschwinden des Nukleolus in der mitotischen Prophase, wenn die Thymonukleinsäure der Chromosomen aufgebaut wird. Der Weg der Nukleinsäuresynthese ist unbekannt; diejenigen Substanzen, welche die größte Voraussetzung dafür zu haben scheinen, das Rohmaterial für die charakteristischen Gruppen, die Purin- und Pyrimidingruppen zu bilden, sind indessen gerade Arginin und Histidin. Dies sind gerade die Aminosäuren, deren Vorkommen in hohen Konzentrationen das wichtigste Charakteristikum der Histone darstellt.

Daß die cytoplasmatischen Nukleinsäuremassen in einer gewissen Beziehung zur Intensität des Zuwachses stehen, ist von CASPERSSON und SCHULTZ gezeigt worden. Sie zeigten auch, daß die Menge dieser Stoffe vom Heterochromatin des Kernes geregelt wird. Daß die Eiweißsynthese im Cytoplasma an die Synthese dieser cytoplasmatischen Nukleinsäuren gebunden ist, ist kürzlich wahrscheinlich gemacht worden (LANDSTRÖM und CASPERSSON 1940, CASPERSSON 1940). Daraus geht als Arbeitshypothese hervor, daß die Funktion des Heterochromatins darin besteht, daß in der Telophase und Interphase Histone produziert werden, die teilweise als Nukleolus im Kern gesammelt werden, teilweise aber an die Kernmembran gelangen und eine Ribosenukleotidsynthese im Cytoplasma bewirken, die die Unterlage der cytoplasmatischen Eiweiß-

synthese ist. *Das Heterochromatin würde also einen besonderen Mechanismus für die Synthese von dem Cytoplasmaweiß darstellen.*

In welchem Maße wird der hier vorgeschlagene Mechanismus durch die histochemischen Untersuchungen gestützt?

Das Bild, welches die mikrochemischen Untersuchungen mittels Färbungs-, Lösungs- und Digestionsmethoden von der Zusammensetzung des Zellkerneiwisses vermitteln, ist ein so buntes und widerspruchsvolles, daß es unmöglich ist, in objektiver Weise zu einem zusammenhängenden System zu gelangen. Über die Nukleinsäurekomponente des Zellkerns siehe CASPERSSON (1936). Es wird deshalb hier nur eine Anzahl von Beobachtungen zitiert, welche von speziellem Interesse für solche Fragen zu sein scheinen, wie sie oben behandelt worden sind. Die vornehmlichste Ursache dafür, daß Beschreibungen so vieler einander widersprechender Experimente vorliegen, hat bereits der Pionier für diese Arbeitsweise, ZACHARIAS, angegeben, wenn er betont, daß „nur aus einer eingehenden Beschreibung des Verlaufs der mikrochemischen Reaktionen die zur Kennzeichnung und Unterscheidung der hier in Betracht kommenden Stoffe maßgebenden Eigentümlichkeiten entnommen werden können“. Eine Anzahl von Übersichtsreferaten liegt vor: HEIDENHAIN, ZACHARIAS (1909), PRATJE (1920), A. MEYER (1920), TISCHLER, KIESEL (1930), MILOVIDOV (1936) u. a. m.

Färbungsversuche. Daß es nicht möglich ist, aus der Farbaffinität andere als sehr allgemeine Schlußfolgerungen auf die chemische Zusammensetzung zu ziehen, ist eine heutzutage allgemein anerkannte Tatsache. Daß die Grundlage der Basophilie bei HEIDENHAINs „doppelter Chromatophilie des Kerns“ in dem Nukleinsäuregehalt des Chromatins zu suchen ist, wurde durch spätere Untersuchungen mit anderen Methoden bestätigt, z. B. CASPERSSON 1936 und ebenso seine Vermutung, zu der ihn LILIENFELDS und Malfatti's Modellversuche führten, daß sich der Farbcharakter ändert, wenn das Eiweiß in der Nukleinsäure-Eiweißverbindung allzusehr überwiegt. Die Veränderung der Färbbarkeit entsprechend der Proportion zwischen Nukleinsäure und Eiweiß sowie der Wasserstoffionenkonzentration ist in neuerer Zeit insbesondere von E. HAMMARSTEN, G. HAMMARSTEN und T. TREBELL untersucht worden. KELLEY hat eine Methode ausgearbeitet, mittels Färbung die Verschiedenheiten in der Zusammensetzung von Nukleinsäure-Eiweißverbindungen zu schätzen. Eine Untersuchung, welche auch die Verhältnisse der speziellen basischen Eiweißkörper berücksichtigt, scheint nach den oben zitierten frühesten Versuchen nicht durchgeführt worden zu sein. Das Oxychromatin hat nach HEIDENHAIN eine distinkt größere Affinität zu sauren Farbstoffen als das Cytoplasma, was auf einen Unterschied der Basizität hindeutet. Wenn auch die Begründung als weit schwächer zu betrachten ist als bei Basichromatin-Nukleinsäuren, so muß man

doch die Ansicht hegen, daß diese Untersuchungen wahrscheinlich machen, daß basische Eiweißkörper in großem Ausmaß im Zellkern vorkommen. Eine Struktur, welche sich ganz besonders durch Azidophilie auszeichnet, ist der Nukleolus. HEIDENHAIN hält die Azidophilie für das distinkte Kennzeichen eigentlicher Nukleolen. Diese Färbungsverhältnisse stimmen mit den obigen Annahmen gut überein. Die dritte Komponente im Zellkern, das Plastin oder das Liningerüst, zeigt keine ausgeprägten Färbungstendenzen, die wenig untersuchten Löslichkeitsverhältnisse desselben stehen nicht im Widerspruch zu der Annahme „gewöhnlicher“ Eiweißkörper in demselben. HEIDENHAIN'S Lehre von der doppelten Chromatophilie hat sich bei allen späteren Untersuchungen bestätigt; wesentlich neues ist aber nicht hinzugekommen.

Lösungsversuche mit verschiedenen Chemikalien, Säuren, Alkalien und Neutralsalzen, sind in großer Anzahl ausgeführt worden und haben sehr widersprechende Resultate ergeben. Die ausführlichsten Untersuchungen wurden von ZACHARIAS, SCHWARZ und ZIMMERMANN, JÖRGENSEN sowie von GROSS vorgenommen. Es handelte sich besonders um den Nachweis von „Nukleoproteiden“ im Kern. Für die feinere Analyse der Eiweißstoffe der verschiedenen Kernstrukturen läßt sich hieraus nichts entnehmen. Der Nukleolus ist diejenige Struktur, welche besonders das Interesse gefesselt hat, aber die Daten sind leider recht widerspruchsvoll.

Verwandt mit diesen sind Versuche, Zellen mit kochendem Wasser zu behandeln. NEMEC (1909/10) wies nach, daß das Chromatin in dem ruhenden Kern nicht von kochendem Wasser gelöst wurde, während das Chromatin der Teilungsstadien in den meisten Fällen völlig gelöst wurde. MILOVIDOV (1932) erhielt ähnliche Resultate und beschrieb, wie Metaphase-, Anaphase- und Prophasechromosomen leicht anschwellen und aufgelöst werden, während sich die Telophasechromosomen schwer lösen, und der Ruhekern noch widerstandsfähiger ist. Dies zeigt mit großer Wahrscheinlichkeit, daß der Ruhekern koagulierbare, d. h. höhere Eiweißstoffe enthält, welche beim Erhitzen unlöslich werden, und daß sich diese während der Prophase in nichtkoagulierbare verwandeln. Diese mit einer so einfachen Technik ausgeführten Experimente stützen, wie man sagen muß, das oben Angeführte in hohem Grade, nämlich daß der Ruhekern außer Histonen höhere Eiweißsubstanzen enthält, welche in der Prophase abgebaut werden, um in der Telophase wieder aufzutauhen. Verschiedene Kerne verhalten sich in dieser Beziehung nicht ganz einheitlich, was man sich als auf verschiedenen Funktionszuständen beruhend denken kann. Auch an Metaphasechromosomen sind etwas verschiedene Beobachtungen gemacht worden, was in Anbetracht der bedeutenden Unterschiede im Grad des Abbaus von Eiweiß sehr erklärlich ist, welche schon KOSSEL im Sperma verwandter Arten feststellte. NAKAMURA (1934) fand, daß ein Teil der Chromosomensubstanz von

Wärme schnell fixiert wurde, während das übrige rasch anschwell. NAKAMURA zieht aus diesem Versuch die Schlußfolgerung, daß auch im unbehandelten Chromosom zwei verschiedene Substanzen vorhanden wären, eine „Matrixsubstanz“ und eine „chromatische Substanz“. Infolge der außerordentlich großen Empfindlichkeit der Nukleinsäure-Eiweißverbindungen gegenüber dem Einfluß physikalischer Faktoren sagt jedoch der Versuch nichts über die Bindungsweise dieser Substanzen vor der Behandlung mit kochendem Wasser.

Digestionsversuche mit Enzymen, vor allem eiweißspaltenden, sind in außerordentlich großem Ausmaß vorgenommen worden und sind in vielen Punkten widersprechend. Die vornehmlichste Ursache hierfür bilden, wie von verschiedenen Forschern, wahrscheinlich zuerst von GROSS, hervorgehoben wurde, die großen Veränderungen der Digestibilität, welche die Fixierung mit sich bringt. Außerdem ist oft die Kontrolle mit inaktiviertem Enzym verabsäumt worden. Diese Umstände sind auch bei Untersuchungen der letzten Zeit oft nicht beachtet worden, weshalb hierauf besonders hingewiesen werden muß, damit diese heutzutage besonders vielversprechenden Methoden nicht in Mißkredit geraten. Es ist beispielsweise nicht selten, sogar in den letzten Jahren, daß Trypsin-Digestionsversuche von Kernsubstanzen in alkalischer Lösung ohne Angabe einer Vorbehandlung oder eines Kontrollversuchs mit inaktiviertem Enzym beschrieben werden. Ist das Präparat nicht vorbehandelt, so kann dasselbe ebensowohl vom Alkali gelöst worden sein.

Das Trypsin bietet nichts von spezieller Bedeutung, da die Kernsubstanzen nach geeigneter Fixierung sich in demselben komplett lösen, und da die freigemachte Nukleinsäure von dem alkalischen Medium aufgelöst wird. Angaben über trypsinunverdauliche Kernteile existieren, dürften aber auf allzustark eiweißzerstörende Fixierung zurückzuführen sein. CASPERSSON (1936) digerierte Zellelemente nach CARNOY-Fixierung mit die freigemachte Nukleinsäure fällendem Lanthansalz enthaltendem Trypsin (Präparat nach E. und H. HAMARSTEN und CASPERSSON 1935). Dabei trat deutlich hervor, wie dieses relativ schonende Fixierungsmittel das Eiweiß sehr rasch unverdaulich machte. Nur nach schneller Fixierung konnte man eine Digestion erhalten. CASPERSSON wies weiter nach, daß in Speicheldrüsenchromosomen trypsinindigestible Substanzen sowohl in den färbbaren Scheiben wie in den Zwischenscheiben vorkommen.

Pepsin-Salzsäure verwendete MIESCHER, um das Cytoplasma in Leukocyten von der Kernmasse zu entfernen. Die Kernmasse selbst ließ bei derartiger Digestion einen unlöslichen Rückstand, das „Nuklein“, zurück. MIESCHERs Nukleine waren nicht, wie er zuerst glaubte, einheitliche Körper. Als sein reinstes Präparat hält er in seinen letzten Arbeiten eine Substanz, welche der entspricht, die ALTMANN als „Nuklein-

säure“ bezeichnet hat. Der Phosphorgehalt dieser Präparate entspricht auch demjenigen Gehalt, welchen spätere Untersuchungen für Nukleinsäuren ergeben haben. Nach MIESCHER ist die Bezeichnung „Nuklein“ für Zwischenprodukte während der Spaltung reserviert worden, und „Nukleoprotein“ für Nukleinsäure-Eiweißverbindungen. Die fälschliche Angabe, daß die Nukleinsäure eine Schutzwirkung im chemischen Sinne auf das Eiweiß ausübe und dasselbe indigestibel mache, welche ab und zu in der cytologischen Literatur auftaucht, dürfte auf einer Verquickung des unscharfen MIESCHERSchen und des KOSSELSchen „Nuklein“-Begriffs beruhen. Bei Pepsindigestion in saurer Lösung bleibt die von der Säure gefällte Nukleinsäure ungelöst zurück; was die Ursache dafür bildet, daß sich sog. Nukleoproteide nur partiell lösen. Dazu kommt, daß das reine Pepsin nach FRUTON und BERGMANN speziell auf Glutaminy-Tyrosinspaltung eingestellt zu sein scheint, woraus folgt, daß Histone und Protamine infolge des niedrigen Gehalts an solchen Peptidbindungen unvollständig gespalten werden. Da die Nukleinsäure oft zusammen mit derartigen Stoffen in den Kernsubstanzen vorkommt, ist erklärlich, daß der Rückstand nach der sauren Pepsindigestion uneinheitlich werden kann. Hierzu kommt noch, daß sämtliche histochemischen Versuche mit unreinen Pepsinpräparaten variierenden Ursprungs ausgeführt worden zu sein scheinen und also auch Peptidasen von anderer Art und unkontrollierbarer Wirkung enthalten haben.

Die Pepsin-Salzsäure-Digestion ist also bei Nukleinsäurelokalisierungsversuchen von einer gewissen Bedeutung, liefert aber zweideutige Werte für die Eiweißsubstanzen in den Kernstrukturen. Es wird beschrieben, daß die Kernsubstanz in großem Ausmaß in dem Reagens partiell löslich sei; inwiefern dies für das nukleinsäurefreie Oxychromatin Geltung hat, ist schwer zu entscheiden. Hinsichtlich der Nukleolen liegt eine ganze Reihe von Untersuchungen vor. Sie scheinen sich wenigstens partiell zu lösen, und zwar auch die am ausgeprägtesten azidophilen. Widersprechende Angaben existieren, sogar von ein und demselben Material, aber hier ist besonders deutlich demonstriert worden (GROSS), wie ungeeignete Fixierung die Digestion verhindert. Diese Untersuchungen bezogen sich auf den Kerninhalt als ganzen oder große Partien desselben. Viel schwieriger wird es, wenn es sich um kleine Kernstrukturen handelt.

MAZIA und JAEGER haben *Drosophila*-Speicheldrüsenchromosomen mit Pepsin-Salzsäure digeriert und gefunden, daß „the pepsin solution did not dissolve any constituent concerned in maintaining the integrity of the chromosome“. Dieses Resultat wäre von ganz besonderem Interesse hinsichtlich der oben angegebenen Möglichkeit, daß durch das Chromosom eine Struktur einfacher Eiweißsubstanzen verlaufe, welche für die kurzwelligste Ultraviolettabsorption verantwortlich ist. Leider kann dies aus folgenden Gründen nicht als voll beweisend betrachtet werden: Die Autoren geben an, daß die Chromosomen nach der Digestion in einem „rather dense knot“ angeordnet waren und daß das Volumen derselben erheblich zurückgegangen war. Sie wurden nicht in kleinere Partien zerlegt, was im Vergleich zu

der vollständigen Digestion in Trypsin zu der eben genannten Schlußfolgerung führte. Dieses Bild ist indessen genau dasselbe wie das, welches man in den allermeisten Fällen auch bei Trypsindigestion erhält, wenn ein nukleinsäurefällendes Agens zugegen ist. Die Nukleinsäure in den Scheiben hat eine außerordentliche Neigung, bei Fixierungen der Drüse direkt zusammenzufließen, so daß auch die am längsten dauernde Trypsindigestion die Chromosomenkontinuität nicht auflöst. In MAZIA's und JAEGER's Fall wird die Nukleinsäure durch die saure Reaktion ausgefällt. Die von CASPERSSON (1936) beschriebenen Kerne, in denen die Scheiben während der Trypsindigestion auf Grund dieser Verhältnisse zerfielen, sind in einer Serie von mehreren Hundert die einzigen, bei denen das Phänomen beobachtet wurde (der Beweis wurde später auf andere Weise weitergeführt). Unter derartigen Umständen hat eine so vereinzelte *positive* Beobachtung des Scheibenzerfalls einen gewissen Wert, aber die negative Schlußfolgerung: kein Zerfall — keine Digestibilität ist natürlich nicht zulässig. Die einzige Art dies zu beweisen ist, an dem gestreckten Chromosom *unter laufender Kontrolle* Digestionsversuche auszuführen, was indessen eine Vorbehandlung voraussetzt, welche nach Verfassers Erfahrungen auch die Digestibilität mit Trypsin vermindert. Derartige Untersuchungen scheinen aber zur Zeit der einzige Weg zu weiterem Studium der betreffenden Strukturen zu sein, weshalb eine Fortsetzung derselben äußerst erwünscht ist.

v. HERWERDEN hat in einer Reihe von Arbeiten die Nukleinsäurekomponenten in der Zelle mit Hilfe von nukleinsäurespaltendem Enzym zu lokalisieren versucht. Die Resultate waren interessant und sind trotz der scharfen Kritik, welche von verschiedener Seite wegen mangelnder Spezifität gegen dieselben gerichtet wurde, im großen ganzen von späteren Untersuchungen mit Ultraviolettabsorptionsmessung bestätigt worden. MAZIA und JAEGER erhielten bei Nuklease-Digestion an Speicheldrüsenchromosomen sehr klare Resultate, indem die karminbindende Substanz in den Bändern völlig entfernt wurde; die Chromosomen verloren gänzlich ihre Basophilie, konnten aber mit Eiweißreagens doch deutlich nachgewiesen werden. Sie wiesen keine Anzeichen von Zerfall auf. Die Scheibenstruktur ließ sich nicht mit einiger Sicherheit wahrnehmen. Dieses Experiment demonstriert in eleganter Weise direkt die Anwesenheit von Eiweißstoffen in den nukleinsäurereichen Bändern, sowie daß in diesem Kern dieselbe Kontinuität in den getragenden Eiweißstrukturen herrschen muß, welche man beispielsweise in praktisch nukleinsäurefreien Eizellkernen anzunehmen Veranlassung hat. Eine Digestion dieser nukleasebehandelten Chromosomen mit kristallisiertem Pepsin wäre von großem Wert.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die mikrochemischen Untersuchungen, welche an Zellkernstrukturen ausgeführt worden sind, nichts ergeben haben, was den Annahmen widersprechen würde, welche oben auf Grund früherer makrochemischer Untersuchungen und Ultraviolettabsorptionsmessungen gemacht worden sind. Daß Histone im großen ganzen weit verbreitet in tierischen Zellkernen, besonders in der Nukleolarsubstanz lokalisiert, vorkommen, findet an den Ergebnissen der Färbungs- und Digestionsversuche eine Stütze; daß im Ruhekern

koagulierbare, d. h. höhere Eiweißstoffe enthalten sind, wurde mit großer Wahrscheinlichkeit gezeigt. Ferner geht hervor, daß während der Prophase umfassende Veränderungen in der chemischen Konstitution des Kerns in Richtung auf eine Zunahme der Basophilie stattfinden.

Zusammenfassung.

Die makrochemischen Untersuchungen von Eiweiß in Kernmaterial, welche von KOSSEL u. a. m. ausgeführt worden sind, haben ergeben, daß im Ruhekern wahrscheinlich oft Histone vorkommen, sowie außerdem, daß während der Spermiogenese ein Umbau von höheren Eiweißsubstanzen in Histone oder Protamine herab stattfindet, welche in Salzbindung mit Thymonukleinsäure den bei weitem überwiegenden Hauptteil des Spermienkerns bilden.

Es wurde eine Methode ausgearbeitet, welche es gestattet, durch Analyse der Absorptionskurven den Gehalt an Nukleotiden, Tyrosin und Tryptophan sowie die Lage des Absorptionsmaximums des Tyrosins zu bestimmen. Bei Messung einer Anzahl von Histonpräparaten wurde eine Verschiebung des letzteren nach der langwelligen Seite beobachtet, welche durch den Gehalt an basischen Aminosäuren verursacht werden dürfte.

An einzelnen Teilen von Speicheldrüsenchromosomen von *Drosophila* wurden Ultraviolettabsorptionsspektren aufgenommen. Dabei ergab sich folgendes: die nukleinsäurereichen Scheiben enthalten Eiweiß vom Histonabsorptionstyp sowie wahrscheinlich auch höhere Eiweißstoffe. Die Zwischenscheiben enthalten Eiweißsubstanzen mit dem Absorptionscharakter der höheren Eiweißkörper. Die heterochromatischen Regionen enthalten ebenso wie der Nukleolus große Mengen von Eiweiß vom Histonabsorptionstyp.

Die Metaphasechromosomen (*Omocestus*, *Chorthippus*) enthalten im Vergleich zu dem Eiweißgehalt sehr große Mengen von Nukleinsäure. Das Eiweiß ist vom Histontyp, sowie möglicherweise von höherem Typ oder einer Zwischenform. Der Eizellkern enthält höhere Eiweißstoffe sowie große Mengen solcher vom Histontyp, die besonders an die Nukleolarsubstanz gebunden sind.

Um die Resultate der oben angeführten Messungen zu erklären, muß angenommen werden, daß die Eiweißveränderungen im Zellkern während der Mitose folgende sind: Das Metaphasechromosom besteht aus Nukleinsäure und Eiweiß vom Histontyp (+ höheres Eiweiß?) in gleichartigen Konzentrationen. Während der Telophase produzieren die genträgenden Chromosomenelemente als erstes Erzeugnis Eiweißstoffe, in den *euchromatischen* Teilen solche vom höheren Typ, in den *heterochromatischen* besonders vom Histontyp. Durch diese Produktion scheinen die Chromosomen anzuschwellen (das Produkt des Heterochromatins sammelt sich

teilweise zum Nukleolus an), und da gleichzeitig oft die Nukleinsäure in den tragenden Strukturen verschwindet, scheint der Kern immer homogener zu werden (im Speicheldrüsenkern ist die Tendenz zur Paarung so groß, daß die lineare Anordnung von nukleinsäurehaltigen tragenden Scheiben, die mit nukleinsäurefreien Zwischenscheiben von telophasischen Eiweißsubstanzen abwechseln, beibehalten wird). In der Prophase werden diese Eiweißstoffe, welche zwischen den gegengenden Teilen des Chromomemas interkaliert sind, abgebaut, wodurch letztere einander wieder genähert werden. Die Nukleinsäure wird daraufhin angereichert, und schließlich bleibt ein eiweißarmes Metaphasechromosom übrig, welches sich gänzlich oder hauptsächlich aus Nukleinsäure und einfachem basischem Eiweiß zusammensetzt.

Der Zellkern besteht also aus dem Euchromatin und dem Heterochromatin, mit ihren telophasischen Produkten. Die Eiweiße des Euchromatins bilden die Hauptmasse des Kernes. Das Heterochromatin ist in die Produktion des Cytoplasmaweißes eingeschaltet.

Die Arbeit wurde durch Unterstützung der Rockefeller Foundation und Stiftelsen Thérèse och Johan Anderssons minne ermöglicht.

Literaturverzeichnis.

- Aekermann, D.: Zur Chemie der Vogelblutkerne. Z. physiol. Chem. 43, 299 (1904). — Altmann, R.: 1889. Zit. nach Levene and Bass: Nucleic Acids. New York 1931. — Bang, I.: Studien über Histon. Z. physiol. Chem. 27, 463 (1899). — Chemische Untersuchungen der lymphatischen Organe. Beitr. chem. Physiol. u. Path. 4, 115, 331, 362 (1904). — Bauer, H.: Der Aufbau der Chromosomen aus den Speicheldrüsen von *Chironomus Thummi*. Z. Zellforsch. 23, 286 (1935). — Beiträge zur vergleichenden Morphologie der Speicheldrüsenchromosomen. Zool. Jb., Physiol. 56, 239 (1936). — Becker, S.: Ein Vergleich der photochemischen Veränderungen. . . Strahlenther. 52, 531, (1935). — Über das Verhalten von d,l-Serin . . . Strahlentherapie 52, 537 (1935). — Caspersson, T.: Über den chemischen Aufbau der Strukturen des Zellkernes. Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.). Suppl. 73 (1936). — Methoden zur physiologischen Analyse der Zellstruktur. Fortschr. Zool., N. F. 2, 270 (1937). — Die Absorptionsmessung im mikroskopischen Präparat als mikrochemische Methode. V. Nord. Kongr. Physiol. Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) 77 (1937). — Kongr.ber. 16. internat. Physiol.-Kongr. 1938. — Über die Rolle der Desoxyribosenuklease bei der Zellteilung. Chromosoma 1, 147 (1939). — Studies on the nucleic acid metabolism during the cell cycle. Arch. exper. Zellforsch. 22, 655 (1939). — Methods for the study of the absorption spectra of cell structures. J. microsc. Soc. 1939. — Über Eiweißstoffe im Chromosomgerüst. Naturwiss. 28, 514 (1940). — Caspersson, T., E. and H. Hammarsten: Interactions of proteins and nucleic acid. Trans. Faraday Soc. 31, 367 (1935). — Caspersson, T. and J. Schultz: Nucleic acid metabolism of the chromosomes in relation to gene reproduction. Nature (Lond.) 142, 294 (1938). — Pentose nucleotides in the cytoplasm of growing tissues. Nature (Lond.) 143, 602 (1939). — The genetic control of nucleolar composition. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. 1940. — Cooper, K.: Concerning the origin of the polytene chromosomes of Diptera. Proc.

- nat. Acad. Sci. U.S.A. 24, 452 (1938). — **Coulter, C., F. Stone and F. Kabat:** The structure of the ultraviolet absorption spectra of certain proteins and amino acids. *J. gen. Physiol.* 19, 739 (1936). — **Dhéré:** Recherches spectrograph. Thèses de Fribourg 1909. — **Ehrström, R.:** Über ein neues Histon aus Fischesperma. *Z. physiol. Chem.* 32, 350 (1901). — **Felix, K.:** Über Eiweißderivate basischer Natur. *Z. physiol. Chem.* 116, 150 (1921). — Über das Histozepton. *Z. physiol. Chem.* 119, 66 (1922). — Über einen basischen peptonähnlichen Körper in der Thymusdrüse. *Z. physiol. Chem.* 120, 91 (1922). — **Feraud, K., M. Dunn and J. Kaplan:** Absorption spectra of amino acids. *J. of biol. Chem.* 112, 323 (1935). — Note on the ultraviolet absorption spectrum of tyrosine. *J. of biol. Chem.* 114, 665 (1936). — **Frolowa, S.:** The development of giant nuclei in the salivary gland. *Bull. Biol. Med. exper.* 6, 131 (1938). — Development of the giant salivary gland nuclei of *Drosophila*. *Nature (Lond.)* 141, 1014 (1938). — **Fruton, J. and M. Bergmann:** The specificity of pepsin. *J. of biol. Chem.* 127, 627 (1939). — On the proteolytic enzymes of animal tissues. *J. of biol. Chem.* 120, 19 (1939). — **Goto, M.:** Über die Protamine. *Z. physiol. Chem.* 37, 94 (1903). — **Groß:** Beobachtungen und Versuche an lebenden Zellkernen. *Arch. exper. Zellforsch.* 4 (1917). — **Hammarsten, E., G. Hammarsten u. T. Teorell:** Versuche über mikrochemische Reaktionen. *Acta med. Scand. (Stockh.)* 68, 219 (1928). — **Heidenhain, M.:** Plasma und Zelle. Jena 1907. — **Herwerden, v.:** Über die Nucleasewirkung auf lebende Zellen. *Arch. Zellforsch.* 10, 413 (1913). — Über die Nuclease als Reagenz auf die Nucleinsäureverhältnisse der Zelle. *Anat. Anz.* 47, 312 (1914). — **Holiday, E.:** The characteristic absorption of ultra violet radiation by certain purines. *Biochemic. J.* 24, 619 (1930). — Spectrophotometry of proteins. *Biochemic. J.* 30, 1795 (1936). — **Huiskamp, W.:** Beiträge zur Kenntnis des Thymusnucleohistons. *Z. physiol. Chem.* 39, 55 (1903). — **Ishiyama, N.:** Über die Kernsubstanz der Leberzellen. *Z. physiol. Chem.* 178, 217 (1928). — **Jørgensen, M.:** Zellenstudien. *Arch. Zellforsch.* 10, 1 (1913). — **Kelley, E. and E. Miller jr.:** Reactions of dyes with cell substances. *J. of biol. Chem.* 110, 113 (1935). — **Kiesel, A.:** Chemie des Protoplasmas. Protoplasma-Monogr. 4 (1930). — **Köhler, A.:** Mikrophotographische Untersuchungen mit ultraviolettem Licht. *Z. Mikrosk.* 21, 129, 275 (1904). — **Köhler, A. u. A. Tobgy:** Mikroskopische Untersuchungen einiger Augenmedien mit ultraviolettem und polarisiertem Licht. *Arch. Augenheilk.* 99, 263 (1928). — **Koltzoff, N.:** Studien über die Gestalt der Zelle. *Arch. Zellforsch.* 2, 1 (1908). — **Kossel, A.:** Über einen peptonartigen Bestandteil des Zellkerns. *Z. physiol. Chem.* 8, 511 (1884). — The protamines and histones. London 1928. — **Kossel, A. u. H. Dakin:** Beiträge zum System der einfachsten Eiweißkörper. *Z. physiol. Chem.* 40, 565 (1904). — **Kossel, A. u. S. Edlbacher:** Beiträge zur Kenntnis der Echinodermen. *Z. physiol. Chem.* 94, 264 (1915). — **Kossel, A. u. F. Kutscher:** Beiträge zur Kenntnis der Eiweißkörper. *Z. physiol. Chem.* 31, 165 (1900). — **Kossel, A. u. H. Pringle:** Über Protamine und Histone. *Z. physiol. Chem.* 49, 301 (1906). — **Kossel, A. u. E. Schenck:** Untersuchungen über die basischen Eiweißstoffe. Ein Beitrag zu ihrer Entwicklungsgeschichte. *Z. physiol. Chem.* 173, 278 (1928). — **Kossel, A. u. W. Staudt:** Über die quantitative Bestimmung von Arginin und Histidin. *Z. physiol. Chem.* 156, 270 (1926). — **Krassnolselsky, T.:** Einige Bemerkungen über das Histozepton. *Z. physiol. Chem.* 49, 322 (1906). — **Landström, Caspersson u. Wöhlart:** Im Druck. — **Lilliefeld, L.:** Zur Chemie der Leukocyten. *Z. physiol. Chem.* 18, 473 (1893). — **Lynch, V.:** Chemistry of the whitefish sperm. *J. of biol. Chem.* 44, 319 (1920). — **Mathews, A.:** Zur Chemie der Spermatozoen. *Z. physiol. Chem.* 23, 399 (1897). — **Mazia, D. and L. Jaeger:** Nuclease action, protease action and histochemical tests on salivary chromosomes of *Drosophila*. *Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A.* 25, 456 (1939). — **Metz, C.:** Structure of the „puffed“ regions in giant salivary gland chromosomes in *Sciara*. *Genetics* 23, 159 (1938). — **Metz, C. and**

E. Lawrence: Studies on the organization of the giant gland chromosomes of Diptera. *Quart. Rev. Biol.* **16**, 135 (1937). — **Meyer, A.:** Morphologische und physiologische Analyse der Zelle. Jena 1920. — **Miescher, F.:** Chemische Zusammensetzung der Eiterzellen. Hoppe-Seylers medizinisch-chemische Untersuchungen, S. 441. 1871. — Physiologisch-chemische Untersuchungen über die Lachsmilch. *Arch. f. exper. Path.* **37**, 100 (1896). — Die histochemischen und physiologischen Arbeiten von F. Miescher, gesammelt und herausgegeben von seinen Freunden. Leipzig 1897. — **Milovidov, P.:** Einfluß von Wasser hoher Temperatur auf den Kern der Pflanzenzellen. *Protoplasma (Berl.)* **17**, 32 (1932). — La constitution chimique et physico-chimique du noyau cellulaire. Prag 1936. — **Nemec, B.:** Das Problem der Befruchtungsvorgänge und andere zytologische Fragen, 1910. — **Pratje, A.:** Chemie des Zellkernes. *Biol. Zbl.* **40**, 88 (1920). — **Ross, W.:** The spectroscopic identification of phenylalanine in protein material. *J. of biol. Chem.* **104**, 531 (1934). — **Schwarz, F.:** Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas. *Beitr. Biol. Pflanz.* **5**, 79 (1887). — **Stenström, W. and M. Reinhard:** The influence of p_H upon the ultraviolet absorption spectra of certain cyclic compounds. *J. physic. Chem.* **29**, 1477 (1925). — Ultraviolet absorption spectra of blood serum and certain amino acids. *J. of biol. Chem.* **66**, 819 (1925). — **Stendel, H.:** Zur Histochemie der Spermatozoen. *I. Z. physiol. Chem.* **72**, 305 (1911). — *II. Z. physiol. Chem.* **73**, 471 (1911). — *III. Z. physiol. Chem.* **83**, 72 (1913). — **Tischler, G.:** Allgemeine Pflanzenkaryologie. Handbuch der Pflanzenanatomie, Bd. 2. 1921/22. — **Zacharias, E.:** Beiträge zur Kenntnis des Zellkernes. *Bot. Ztg* **45**, 281 f. (1887).

(Chemische Institution, Karolinska Institutet, Stockholm.)

NUKLEINSÄUREKETTEN UND GENVERMEHRUNG.

Von

TORBJÖRN CASPERSSON.

Mit 3 Textabbildungen (4 Einzelbildern).

(Eingegangen am 3. September 1940.)

In der vorausgehenden Arbeit wurde gezeigt, daß die Eiweißstoffe im Zellkern während der Prophase aller Wahrscheinlichkeit nach Veränderungen von der Art durchmachen, wie sie MIESCHER und vor allem KOSSEL mittels chemischer Methoden während der Reifung der Spermien nachweisen konnten (Schrifttum s. l. c.). Das Metaphasenchromosom enthält Eiweißsubstanzen und Thymonukleinsäure in ungefähr derselben Konzentration. Die eingehenden Eiweißstoffe sind, wenigstens vorwiegend, möglicherweise gänzlich, von basischer Natur. Während der Telophase schwillt das Metaphasenchromosom dadurch an, daß die tragenden Strukturen Eiweißsubstanzen von höherem, nicht basischem Typ produzieren. Die heterochromatischen Abschnitte erzeugen, wenigstens zur Hauptsache, Eiweiß vom Histonabsorptionstyp, welches zusammen mit anderen Substanzen den Nukleolus bildet. Im Speicheldrüsenkern ist die Tendenz zu somatischer Paarung so stark, daß der Interphasenkern eine Anordnung behält, welche dem des prophasischen Kerns ähnelt.

Bei der Vermehrung *vs* Molekülen, welche imstande sind, sich automatisch zu reproduzieren, wurde den Nukleotiden von CASPERSSON und SCHULTZ (1938) eine besondere Rolle zugeschrieben. Bisher ist noch in keinem Fall nachgewiesen worden, daß eine derartige Reproduktion stattgefunden hätte, ohne daß Nukleotide zugegen waren. Dies hat bezüglich der Gene an genetischen und zytologisch-chemischen Untersuchungen eine Stütze gefunden (CASPERSSON 1936, 1939, CASPERSSON und SCHULTZ 1938, 1940). Letztere haben auch ergeben, daß allgemein, wenn im Cytoplasma ein rascher Eiweißaufbau vor sich geht, erhebliche Konzentrationen von Nukleotiden zur Stelle sind, was so gedeutet wird, daß die Nukleotide eine bestimmte Rolle beim Aufbau der Eiweißstoffe der Zelle spielen (vgl. unten). Die in Betracht kommenden Nukleinsäuren scheinen bei den Genen in den Chromosomen immer vom Desoxyribosetyp zu sein, (FEULGEN-Reaktion), während Virus und Phagen, Plastiden und Eiweißkörper im Cytoplasma Nukleotide vom Ribosetyp haben. Diese Verschiedenheit dürfte auf den Umstand zurückzuführen sein, daß, während es sich im zweiten Fall um die Produktion relativ einheitlicher Moleküle handelt, es im Chromosom gilt, eine große Menge von verschiedenen

Systemen zu reproduzieren, weshalb die strukturelle Anordnung derselben eine besondere Rolle spielt. Das Desoxyribosepolynukleotid der Thymonukleinsäure zeichnet sich nämlich in ganz besonders hohem Grade durch strenge Orientierung im Molekül aus.

Die eigenartigen kolloidchemischen Verhältnisse des Desoxyribosepolynukleotids sind besonders von E. HAMMARSTEN (1924) untersucht worden. Er wies nach, daß die mit schonender Kochsalzextraktion dargestellte native Säure äußerst leicht durch verschiedene Agentien verändert wird und war daher der Ansicht, daß dieselbe besondere Voraussetzungen besitzt, bei den Stoffwechselvorgängen in der Zelle eine wichtige Rolle zu spielen. CASPERSSON fand (1934), daß die nach HAMMARSTEN dargestellte Säure Zellafilter nicht passierte, welche Eiweißstoffe durchlassen, was auf ein hohes Molekulargewicht hindeutet. Durch Filtration mittels sehr grobporiger Filter wurde eine Verunreinigung entfernt, welche aus Aggregaten von denaturiertem Eiweiß bestand. An einem in dieser Weise behandelten Präparat fand PEDERSEN bei Ultrazentrifugierung, daß das Molekulargewicht sehr hoch sein mußte (zit. nach SIGNER, CASPERSSON und HAMMARSTEN 1938). Von der Beobachtung ausgehend, daß das Natriumsalz der Thymonukleinsäure eine sehr hohe Strömungsdoppelbrechung zeigte, untersuchten SIGNER, CASPERSSON und HAMMARSTEN die Substanz mittels der von SIGNER ausgearbeiteten Methoden, wobei sich ergab, daß die Lösung derselben sehr lange Kettenmoleküle mit einem Molekulargewicht bis zu 500000 enthält. Das Molekül war hochpolymer, aus hintereinander angeordneten Mononukleotiden aufgebaut. Auf Grund der hohen Eigendoppelbrechung wurde die Schlußfolgerung gezogen, daß die Orientierung der polaren Gruppen der Nukleotide im Raum streng einheitlich sein müsse. Bei vollständigeren Berechnungen der Ultrazentrifugierungsdata fand PEDERSEN (zit. nach The Ultracentrifuge, SVEDBERG und PEDERSEN 1940), daß das Molekulargewicht von verschiedenen Faktoren, wie Verdünnung usw., stark verändert wurde, was in sehr guter Übereinstimmung zu den höchst wechselnden kolloidchemischen Verhältnissen steht, welche E. HAMMARSTEN bereits 1924 nachgewiesen hatte. ASTBURY und BELL (1938) fanden, daß die Periode im Molekül gut mit derjenigen in einer gestreckten Polypeptidkette übereinstimmte, und ASTBURY (1939) äußerte vorschlagsweise die Ansicht, daß die supponierte Rolle desselben bei der Geneiweißreproduktion (CASPERSSON 1936, 1939, CASPERSSON und SCHULTZ 1938, 1939) darin bestünde, eine Polypeptidkette an sich zu binden und zu strecken, was eine Vorbereitung für den eigentlichen Reproduktionsprozeß darstellen könnte.

Die allgemeinen kolloidchemischen Eigenschaften der aus Hefe sowie Pankreas dargestellten Präparationen unterscheiden sich bei weitem von denjenigen der Desoxyribosepolynukleotide: eine Strömungsdoppelbrechung ist nicht nachgewiesen worden, Diffusionsversuche

(JORGES und MYRBÄCK) zeigten nur einen niedrigen Polymerisationsgrad. Im Vergleich zur Thymonukleinsäure sind jedoch die Eigenschaften dieser Säuren äußerst unvollständig bearbeitet.

Die Nukleinsäuren spielen indessen nicht nur bei der Vermehrung von Genen eine essentielle Rolle, sondern scheinen auch allgemein bei jeder biologischen Eiweißsynthese erforderlich zu sein.

Die Beweise hierfür sind in der Hauptsache folgende: CASPERSSON fand 1936, daß bei raschem Wachstum von Hefezellen große Mengen von Nukleinsäuren in den Zellen auftreten. CASPERSSON und SCHULTZ (1938) stellten an einer Serie rasch wachsender Gewebe aus dem Pflanzen- und Tierreich fest, daß im Zytoplasma große Mengen Nukleinsäuren vom Ribosetyp vorhanden waren, und schlossen allgemein, daß: „The presence of pentose nucleotides in high concentrations in rapidly dividing tissues is probably thus a general phenomenon“. Sie analysierten auch das Verhältnis von Ribosenukleotiden zu Eiweißsubstanzen in der sich entwickelnden Speicheldrüse der *Drosophila*-Larve und fanden in Übereinstimmung damit, daß das Zytoplasma in den früheren Stadien proportional mehr Nukleinsäuren enthielt als später (1940).

Bei embryonalem Material gilt ganz allgemein, daß der Ribosenukleotidgehalt des Zytoplasmas höher als bei adulten Zellen ist (CASPERSSON und JUNGNER), und während der Entwicklung und Differenzierung geht dieser Gehalt zurück. Eine eingehendere Analyse der Entwicklung der Hefe ergab, daß die oben erwähnte Pentosenukleinsäuresynthese nur im Zusammenhang damit stattfindet, daß die Eiweißvermehrung im Plasma vor sich geht, während dagegen der Gärungsprozeß eine solche nicht hervorruft (BRANDT und CASPERSSON). CASPERSSON und NYSTRÖM haben gezeigt, daß in Zellen von malignem Charakter eine Beziehung zwischen dem Gehalt des Zytoplasmas an Nukleotiden und dem Malignitätsgrad besteht. Dieselben Autoren fanden auch, daß sich während des Verhornungsprozesses in der Oberhaut derartige Substanzen in den Zellen ansammeln.

Beweise von anderer Art liefern die eiweißproduzierenden Drüsenzellen. Diese werden allgemein im gesamten Tierreich von dem Vorkommen einer cytoplasmatischen Struktur, des Basalfilaments oder Ergastoplasmas, gekennzeichnet. CASPERSSON und LANDSTRÖM haben nachgewiesen, daß diese Struktur Nukleotide, welche in sonstigen Zellen nur in niedrigen Konzentrationen vorkommen, in hohen Konzentrationen enthält.

In sämtlichen untersuchten Fällen von rascher Vermehrung von Eiweißsubstanzen innerhalb der Zelle ist also beobachtet worden, daß während der Vermehrungsperiode erhebliche Konzentrationen bis zu mehreren Prozenten Ribosenukleinsäuren im Zytoplasma vorliegen.

Die Anwesenheit von Nukleinsäuren scheint demnach für jegliche biologische Eiweißsynthese erforderlich zu sein, von der Vermehrung von Virus, Genen und Phagen bis zur Zunahme des relativ einfachen zytoplasmatischen Eiweißes.

In sämtlichen Fällen, bis auf einen, handelt es sich um Pentosenukleotide. Der Ausnahmefall ist das Gen, welches Desoxypentosenukleotide, d. h. Thymonukleinsäure, enthält. Was das Gen im Chromosom vor allen anderen oben erwähnten Eiweißelementen auszeichnet, ist der Umstand, daß dasselbe in eine strenge Linearstruktur eingeordnet liegt. Es ist doch auffallend, daß gerade dieses dadurch gekennzeichnet werden muß, daß es Desoxyribosepolynukleotide enthält, welche von

anderen Polynukleotiden dadurch abstechen, daß ihnen so außergewöhnliche Möglichkeiten eigen sind, als Hintergrund einer Linearstruktur zu dienen (CASPERSSON 1939, auch SIGNER, CASPERSSON und HAMMARSTEN 1938).

Es ist daher möglich, daß sich im Chromosom eine auf die Thymonukleinsäure gegründete Längsstrukturierung in den getragenden Teilen auffinden ließe. Dies gilt natürlich nur für diejenigen Stadien, während welcher die eigentliche Genvermehrung stattfindet. *Im Einklang zu dem in der vorausgehenden Arbeit angeführten kann dagegen der Zustand im Speicheldrüsenkern bei der Drosophila-Larve mit seinen laufenden Endomitosen nicht mit demjenigen des Genomemas während der Periode des Zellteilungszyklus verglichen werden, wo die Gene so nahe aneinander liegen können, daß sich die Desoxyribosenukleotidketten von dem einen zum anderen hinüberstrecken können.* Im Speicheldrüsenkern sind die Abstände zwischen den einzelnen Genen wie in anderen Telophasenkernen durch dazwischenbefindliches während der Telophase produziertes Eiweiß sehr groß (s. die vorausgehende Arbeit). Es ist daher unmöglich, anzunehmen, daß die strukturbildende Fähigkeit der Thymonukleinsäure in derselben Weise wie beispielsweise während gewöhnlicher Prophasen zum Ausdruck kommen könnte. Folglich ist zwar möglich, aber kaum wahrscheinlich, daß die nukleinsäurereichen Bänder etwas anderes als eine sehr unvollständige Orientierung der Thymonukleinsäure zeigen.

Über die Doppelbrechung der Kernsubstanz.

Die Doppelbrechung, welche von verschiedenen Autoren in chromatischem Kernmaterial, ganz besonders bei gewissen Spermien (s. W. J. SCHMIDT's umfassende Monographie 1937) beobachtet worden ist, beruht, wie W. J. SCHMIDT mit Hilfe von Modellversuchen nachgewiesen hat, hauptsächlich auf der Thymonukleinsäure. Die Doppelbrechung tritt im wesentlichen nach Vorbehandlung mit verschiedenen Agentien, am besten mit Alkohol, hervor. SCHMIDT hat sich sogar dieser Doppelbrechung als eines eleganten Nachweises von Nukleinsäure in Kernstrukturen bedient. Abgesehen von den eben erwähnten Spermien existieren äußerst wenige Beschreibungen von doppelbrechendem Chromatin in lebenden Zellen. KELLER (1932) sah eine Doppelbrechung in *Rhynchelmis*-Chromosomen. Die Doppelbrechung, welche bei Chromosomen in dem sich furchenden *Psammochinus*-Ei beschrieben worden ist, hat sich als — jedenfalls im wesentlichen — von dem Spindelapparat verursacht erwiesen (W. J. SCHMIDT 1939).

Es ist also kennzeichnend für das Chromatin, daß dasselbe, mit einigen wenigen Ausnahmen, erst nach Behandlung mit fixierenden oder jedenfalls dehydrierenden Agentien eine Doppelbrechung vom Nukleinsäurecharakter aufweist. Nach derartiger Behandlung läßt sich diese bei

einer großen Menge von Zellen, sowohl während der Teilung wie in der Interphase, beobachten.

Die Erklärung hierfür ist in der außerordentlich starken Eigendoppelbrechung der Thymonukleinsäure, kombiniert mit der Neigung, zu Ketten polymerisiert zu werden, welche einige hundert Male länger als dick sein können (vgl. oben), zu suchen. Wenn derartige Ketten in einer Lösung oder einem Gel vorhanden sind, muß jeder Eingriff, beispielsweise das Eindringen fällender Mittel von einer der Seiten oder das einseitige Absaugen von Wasser aus der Lösung, sehr große Aussichten haben, ausrichtend zu wirken. Sobald in einer Lösung eine Strömung zustande kommt, geht eine partielle Orientierung vor sich, und sobald in einem Gel eine Schrumpfung eintritt, welche nicht absolut gleichförmig verläuft, dann muß eine Orientierung derartiger außerordentlich langer Partikel einsetzen, und infolge der sehr starken Eigendoppelbrechung tritt eine Doppelbrechung hervor, welche im Verhältnis zur Richtung der Strömung bzw. der geringsten Schrumpfung negativ ist.

Die enorme Tendenz zur Entstehung von Artefakten muß das Urteil darüber außerordentlich erschweren, inwieweit die Nukleinsäure im nativen Chromatin orientiert ist; eine Orientierung bedeutet, daß dieselbe in eine Struktur von anderen Stoffen eingeordnet vorkommt oder selbst, ganz oder teilweise, das Skelett einer solchen bildet. Fixierte Chromosomen können ein Bild darbieten, welches völlig mit dem oben über die Möglichkeit von Artefakten gesagten übereinstimmt. Die Spiralisierung des Chromonemas trübt ebenfalls das Bild (KUWADA und NAKAMURA 1934, NAKAMURA 1937).

Hinsichtlich der Struktur des lebenden Chromosoms dürften daher nur Kerne, bei welchen die Spiralisierung nicht so hervortretend ist, gute Aussichten für die Untersuchung bieten.

Die oben erwähnten doppeltbrechenden Spermien werden sämtlich dadurch gekennzeichnet, daß sie einen fadenförmigen Kopf haben, und daß die Doppelbrechung allmählich auftritt, während der runde Kern der Spermatide mehr und mehr gestreckt wird. Dies hat zur Folge, daß kein Grund zu der Annahme vorliegt, die Spermiendoppelbrechung sei mit einer Doppelbrechung des *Chromonemas* identisch, da dieselbe durch eine physiologische ungleichförmige Schrumpfung der Kerneubstanz aufgetreten sein kann.

Das Speicheldrüsenchromosom bietet scheinbar einen günstigen Fall, indem dasselbe nicht spiralisiert ist und indem eine Vermehrung der Gensubstanz auf endomitotischem Wege vor sich geht. Im Falle, daß diese völlig an eine strenge Orientierung der Thymonukleinsäuremizellen in der Längsachse des Chromosoms gebunden wäre, müßte diese also hervortreten. Ebenso sollte eine strenge Orientierung der Ketten des basischen Eiweißes, wie man sie bei so vielen Spekulationen über den mizellären Bau der Chromosomen angenommen hat, als eine Nukleinsäureorientierung

hervortreten. Nimmt man nämlich eine strenge Orientierung dieser basischen Ketten an, dann ergibt sich notwendigerweise die Annahme, daß dieses steife hochpolymere Nukleinsäuremolekül, mit starken Säuregruppen in jedem Element, in irgendeiner Weise mit einer Richtung im Raum bevorzugt angeordnet sei.

W. J. SCHMIDT konnte Beobachtungen von H. ULLRICH (1936) bestätigen und fand eine schwache Doppelbrechung nukleinsäurereicher Segmente in den Chromosomen von *Chironomus*. Er sagt über die Beobachtung unter anderem: „Auch ich konnte am überlebenden Objekt, sofern auch im gewöhnlichen Licht die Chromosomen sichtbar waren oder beim Absterben allmählich zum Vorschein kamen, die freilich sehr schwache Doppelbrechung ihrer stark lichtbrechenden Scheiben beobachten“¹.

Alkoholbehandlung verstärkte die Doppelbrechung bedeutend. Der Gangunterschied ist so außerordentlich klein, etwa 2μ , daß eine besonders hochentwickelte Technik erforderlich ist, um denselben beobachten und messen zu können. KUWADA und NAKAMURA (1938) konnten diese Doppelbrechung nicht wiederfinden, sondern fanden eine schwache mit entgegengesetztem Vorzeichen. ALTENBURG konnte eine Doppelbrechung in den erheblich kleineren Chromosomen von *Drosophila melanogaster* nicht beobachten. PFEIFFER (1940) bestätigte die Beobachtungen W. J. SCHMIDTs an demselben Material, stellte aber leider keine Messungen der Stärke der Doppelbrechung an. Diese widersprechenden Ergebnisse, im Verein mit dem oben angeführten Artefaktrisiko, lassen es schwierig erscheinen, zu entscheiden, ob eine wirkliche Orientierung der Nukleinsäuremoleküle vorkommt. SCHMIDT (1939) ist der Ansicht, daß dies der Fall sei, indem er, auf SIGNER, CASPERSSON und HAMMARSTENs Nachweis über Form und optischen Charakter des Moleküls gestützt, die Schlußfolgerung zieht, daß im *Chironomus*-Chromosom die Moleküle der Thymonukleinsäure parallel zu der Chromosomenachse verlaufen.

Die Effekte, welche man bei den Doppelbrechungsuntersuchungen erhalten hat, sind sehr klein. SCHMIDT erhielt bei *Chironomus*-Chromosomen, wie gesagt, einen Gangunterschied von nur 2μ , wohl die Grenze dessen, was auch der in dieser Technik am meisten Erfahrene messen kann. Es ist daher eine empfindlichere Methodik zur Messung erforderlich, weshalb Versuche angestellt wurden, eine solche auszuarbeiten, über welche im folgenden berichtet werden soll.

Meßmethode.

Die strenge Orientierung der polaren Gruppen im Thymonukleinsäuremolekül, auf welche die Messungen der Strömungsdoppelbrechung (SIGNER, CASPERSSON und HAMMARSTEN) hingewiesen haben, deutet die

¹ Naturwiss. 1937, 506/507.

Möglichkeit an, daß Dichroismus auftreten könnte. Wenn nämlich diejenigen Gruppen, welche die Ultraviolettbande bei 2600 Å bedingen, eine distinkte Orientierung im Raum haben, so ist möglich, daß die Absorption für polarisierte Strahlen mit der Schwingungsebene parallel bzw. senkrecht zur Ebene der absorbierenden Ringe verschieden wird. Daß dies wirklich der Fall ist, geht aus Abb. 1 hervor. Dieselbe wurde in der Weise hergestellt, daß ein inhomogenes Gel von Thymonukleinsäure zwischen zwei Platten aus geschmolzenem Quarz gepreßt wurde, worauf zwei Photographien mit ultraviolettem Licht von der Wellenlänge 257 mμ, in zwei zueinander senkrechten Ebenen polarisiert, aufgenommen wurden. Die entsprechende

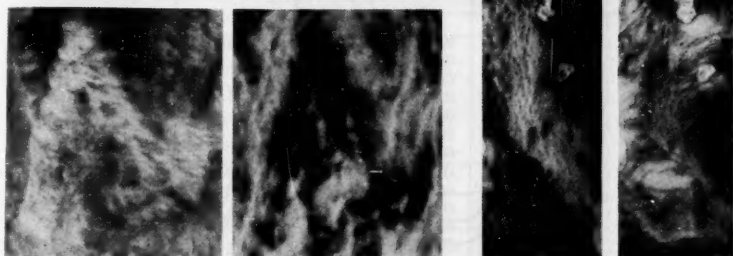


Abb. 1. Ultraviolettaufnahmen zur Demonstration des Ultraviolett-dichroismus der Thymonukleinsäure. (Näheres im Text.)

Lage der Nukleinsäuremoleküle verhält sich in verschiedenen Teilen des Präparats verschieden. Wo die Nukleinsäuremoleküle gerade hauptsächlich parallel zu einer der Schwingungsebenen lagen, wird das Gebiet auf der einen Photographie dunkel und auf der anderen hell, wo sie dagegen in einem Winkel von etwa 45° lagen, hat das Gebiet auf beiden Photographien dieselbe Schwärzung.

Um diesen Effekt in zytologischem Material messen zu können, wurde die Apparatur zur Messung der Ultraviolettabsorption von Zelleinzelheiten verwendet, welche in der vorausgehenden Arbeit beschrieben worden ist (CASPERSSON 1936, 1937, 1938, 1939), mit dem Unterschied, daß Prisma *F* durch ein solches aus Kalkspat ersetzt wurde. Dadurch, daß das Prisma etwas geschwenkt werden kann, läßt sich der ordinäre oder der extraordinäre Strahl in die Kondensoröffnung werfen (für sowohl Konstruktion wie Ausführung dieser Polarisatoranordnung bin ich Herrn Professor A. KÖHLER zu großem Dank verpflichtet). Die optischen Teile hinter dem Prisma sind sämtlich in geschmolzenem Quarz ausgeführt.

Ein so gut wie möglich orientierter Nukleinsäurefilm wurde hergestellt, indem ein Gel zwischen zwei Quarzgläsern stark ausgestrichen und rasch luftgetrocknet wurde. Die Schichtdicke wechselte in verschiedenen

Teilen erheblich. In der Ultraviolettmeßapparatur wurden Abschnitte von etwa 0,05 mm Durchmesser mit homogener Absorption ausgewählt, woraus diese in einer Serie von verschiedenen Wellenlängen gemessen wurden, einmal mit polarisiertem Licht von zur Ausstrichrichtung paralleler Schwingungsrichtung, ein anderes Mal mit solchem von

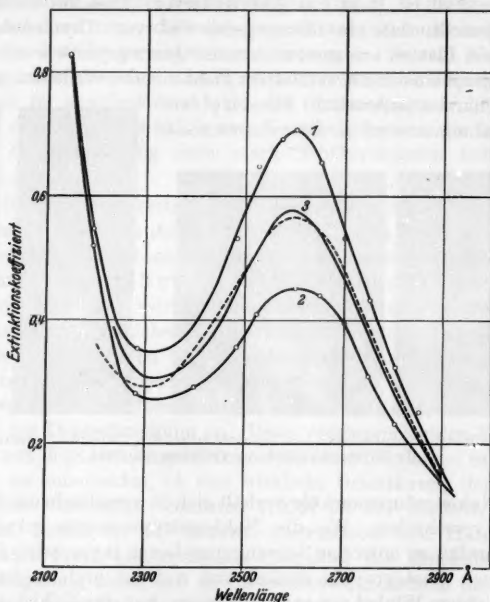


Abb. 2. Absorptionsspektren eines gestreckten Thymonukleinsäurefilms in polarisiertem Licht. Kurve 1, Schwingungsrichtung senkrecht zur Orientierungsrichtung der Moleküle; Kurve 2, Schwingungsrichtung parallel dazu. Kurve 3, arithmetisches Mittel. Die mit Kurve 3 fast ganz zusammenfallende gestrichelte Kurve ist eine Absorptionskurve, die in unpolarisiertem Licht aufgenommen ist.

zur Ausstrichrichtung senkrechter Schwingungsrichtung. Abb. 2 zeigt die erhaltenen Absorptionskurven. Das Licht mit zur Molekülachse senkrechter Schwingungsrichtung wird innerhalb des Pyrimidinbandes stärker absorbiert als das mit paralleler Schwingungsrichtung. In beiden Fällen weicht die Form der Absorptionskurven von derjenigen der gewöhnlichen Absorptionskurve ab; im ersten Falle ist das Maximum spitzer, im letzteren stumpfer. Das Mittel der Werte der beiden Kurven gibt eine Kurve, welche genau dieselbe Form hat wie eine in unpolarisiertem Licht gemessene. Die Messungsdaten gehen aus Tabelle 1 hervor. Eine Serie von derartigen Präparaten wurde mit verschieden intensiver Ausstreichung

mit und ohne folgende Fixierung in Alkohol hergestellt. Die Werte der Quotienten zwischen den Extinktionskoeffizienten für 2650 Å gaben variierende Werte, die höchsten, welche erreicht wurden, lagen zwischen 1,5 und 1,6. Es gibt zwei Möglichkeiten: Entweder wird die Orientierung durch die Ausstreichung nicht vollständig, oder auch nicht alle Gruppen in der Nukleinsäure sind so orientiert, daß sie Dichroismus aufweisen. Der Verhältniswert 1,5—1,6 entspricht, wenn man die unter dem Maximum gelagerte nichtselektive Absorption berücksichtigt, dem, daß die Extinktionskoeffizienten für die beiden

Schwingungsrichtungen sich wie ungefähr 1:2 verhalten. Mögliche Erklärung hierfür sind, daß von den vier absorbierenden Gruppen, welche sämtlich ungefähr ebensoviel absorbieren, nur zwei die zur Entstehung von Dichroismus erforderliche Orientierung haben, oder daß die absorbierenden Gruppen überhaupt nicht absolut senkrecht zur Achse eingestellt sind. Es ist zur Zeit nicht möglich, zwischen diesen Möglichkeiten zu entscheiden. Der Umstand, daß sich das Verhältnis 1,5 so leicht erreichen läßt, während dasselbe nur mit

Schwierigkeit etwas überschritten werden kann, spricht jedoch stark dafür, daß bei diesem Wert die Orientierung der Moleküle nahezu vollständig ist, und daß 1,5—1,6 das Verhältnis ist, welche das einzelne Nukleinsäuremolekül aufweisen würde.

Die Sonderstellung der Thymonukleinsäure unter den Nukleinsäuren hinsichtlich der Ausbildung von Kettenmolekülen geht auch aus Messungen mit derselben Technik an Hefenukleinsäure sowie Pankreaspolynukleotidpräparaten hervor, welche mit einer weniger schonenden Technik als der HAMMARSTENSCHEN für Thymonukleinsäure dargestellt worden waren. Bezüglich der ersten ist nur bekannt, daß dieselbe in mäßigen Geschwindigkeitsgefällen keine Strömungsdoppelbrechung aufweist. Das zweite tut dies auch nicht, aber der faserige Aufbau des Ergastoplasmas der Pankreaszelle, das, wie nachgewiesen wurde, große Mengen von Ribosenukleotiden enthält (CASPERSSON und LANDSTRÖM), läßt einen derartigen Verdacht entstehen. Die Messungen ergaben bei Hefenukleinsäure einen schwachen, aber deutlichen Unterschied der Extinktionen in verschiedenen Schwingungsebenen. Der höchste Wert, welcher erhalten wurde, betrug 1,1. Das Pankreasnukleotidpräparat ergab einen deutlichen, aber noch schwächeren Effekt. Dies zeigt, wenn man einen gleichartigen Molekülbau

Tabelle 1.

Wellenlänge	Extinktionskoeffizient Schwingungsrichtung	
	parallel	senkrecht
2140	etwa 0,824	etwa 0,824
2190	0,523	0,550
2280	0,280	0,355
2310	0,280	0,320
2400	0,293	—
2480	0,358	0,531
2530	0,407	0,648
2570	—	0,694
2600	0,456	0,716
2650	0,440	0,656
2700	0,396	0,534
2750	0,312	0,435
2800	0,233	0,325
2850	0,248 (?)	0,254
2900	0,146	0,153

annimmt, eine deutliche Tendenz zur Orientierung, aber in weit geringerem Maße als bei der Thymonukleinsäure.

Einige zytologische Beobachtungen.

Diese Methode, auf biologisches Material angewendet, unterscheidet sich von der gewöhnlichen Polarisationsmikroskopie generell in drei Punkten, nämlich: 1. sie ist chemisch spezifisch, 2. der Grad der Orientierung kann bestimmt werden, und 3. sie ist sehr empfindlich. 1. Die Spezifität beruht darauf, daß die Bande bei 2600 Å für die Pyrimidinringe charakteristisch ist. Durch Messung in einigen Wellenlängen kann leicht festgestellt werden, ob es sich um Nukleotide handelt. Die Spezifität wird von Formdoppelbrechung wenig beeinflusst. 2. Wenn die Absorption des Thymonukleinsäuremoleküls für die beiden Schwingungsrichtungen bekannt ist (s. oben), läßt sich in jedem einzelnen Fall der Orientierungsgrad aus dem Verhältnis zwischen den Extinktionskoeffizienten beim Absorptionsmaximum berechnen. 3. Ein Würfel einer 10%igen Lösung von Thymonukleinsäure mit einer Seitenlänge von 1μ würde bei vollständiger Orientierung in grünem Licht, auf Grund der SIGNERSCHEN Strömungsdoppelbrechungswerte 1937 berechnet, einen Gangunterschied von etwa $6m\mu$ geben. Die Veränderung des Extinktionskoeffizienten, welche durch den Dichroismus bedingt wird, entspricht 0,22 oder in der Lichtabsorption 40%, was sich in der verwendeten Apparatur mit der Genauigkeit von einigen Prozenten bestimmen läßt. Der Gangunterschied von $6m\mu$ dürfte an der Grenze dessen liegen, was mit einiger Exaktheit gemessen werden kann. Mittels Dichroismusmessungen läßt sich folglich eine Orientierung messen, welche viel kleinere Effekte gibt als eine im Polarisationsmikroskop meßbare.

Abb. 3 zeigt ein Objekt, ein Spermienbündel von einer Heuschrecke, das in gewöhnlichem Licht starke Doppelbrechung zeigt, die, wie oben erwähnt worden ist, von W. J. SCHMIDT auf den Einfluß der Nukleinsäure zurückgeführt wurde. Das Objekt ist, um irreführende Exponierungseffekte zu vermeiden, in zwei Lagen für jede Art des einfallenden polarisierten Lichtes photographiert. Es geht deutlich hervor, daß die Absorption am größten ist, wenn die Schwingungsrichtung zur Längsachse der Spermien senkrecht ist, was direkt zeigt, daß die Nukleinsäuremoleküle längs dieser angeordnet sind. Die Absorptionsverschiedenheit entspricht einer praktisch vollständigen Orientierung.

An den Speicheldrüsenchromosomen von *Drosophila melanogaster* sind bisher nur photographische Messungen der Absorption ausgeführt worden, da diese das Überblicken eines größeren Gebietes gestatteten, eine geringere Bestrahlung des Objektes mit sich brachten und eine zur prinzipiellen Entscheidung ausreichende Genauigkeit boten. Wenn die Nukleinsäuremoleküle parallel zu den hypothetischen Polypeptidketten verlaufen würden, wie W. J. SCHMIDT in der oben zitierten Arbeit meint,

so wäre eine einigermaßen vollständige Orientierung zu erwarten. Die photographische Messung würde einen Effekt nachgewiesen haben, welcher ein Zwanzigstel des in diesem Falle erwarteten Effektes beträgt. *Das Resultat war aber völlig negativ.* Die Präparate waren mit lanthanhaltiger Essigsäure behandelt worden, welche außerordentlich genau

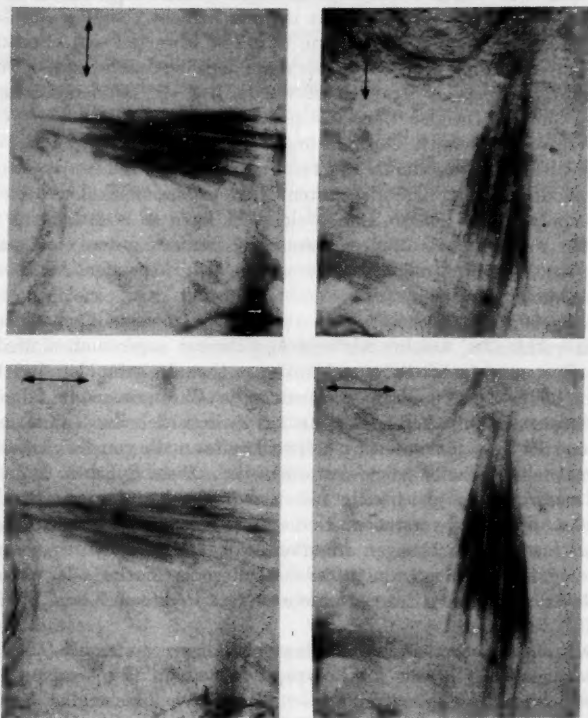


Abb. 3. Ultravioletttaufnahmen in polarisiertem Licht von einem Spermienbündel einer Heuschrecke. Die Schwingungsrichtung des einfallenden Lichts ist mit Pfeilen markiert.

reproduzierbare und klare Präparate zur Untersuchung im Ultraviolett gibt. Das Lanthan fällt die Nukleinsäure mit großer Avidität, so daß die Struktur durch die quellende Wirkung der Essigsäure auf Eiweiß nicht zerstört wird. Nukleinsäureschicht sowie Spermienpräparat büßen bei dieser Behandlung ihre Orientierung nicht ein.

Aus diesen Beobachtungen geht hervor, daß eine nennenswerte einheitliche Orientierung der Thymonukleinsäuremoleküle in den Scheiben

nicht angenommen werden kann. SCHMIDTS Messungen waren an *Chironomus*-Chromosomen ausgeführt worden, welche mindestens den doppelten Durchmesser der *Drosophila*-Chromosomen haben. Die Nukleinsäurekonzentrationen liegen, wie man nach den Messungen von CASPERSSON annehmen kann, bei der Größenordnung von 5–10%. Nach den oben angegebenen Bestimmungen sollte im grünen Licht für eine Scheibe mit 10% Nukleinsäure in einer Schicht von 10μ ein Gangunterschied von der Größenordnung $60\text{ m}\mu$ zu erwarten sein. SCHMIDTS Wert von etwa $2\text{ m}\mu$ zeigt also, auch wenn derselbe durch positive Formdoppelbrechung etwas herabgesetzt wurde, daß die Nukleinsäureorientierung im absterbenden Chromosom praktisch gleich Null ist.

Diese orientierenden Beobachtungen ergeben also, daß es mit dem Speicheldrüsenchromosom als Typ nicht möglich ist, ein einfaches Chromosomenmodell mit streng orientierten Nukleinsäuremolekülen derselben Größenordnung zu konstruieren, welche die nach E. HAMMARSTEN dargestellte Säure in verdünnten Lösungen hat. Aus der vorliegenden sowie der vorausgehenden Arbeit ergibt sich folgender Aufbau des Speicheldrüsenchromosoms:

In den euchromatischen Regionen ist eine Menge von einfachen Aminosäuren vorhanden, welche, wie rein hypothetisch angenommen wird, zu einem System einfacher Polypeptidketten aneinander gebunden sind; diese Ketten bilden die Grundlage der Struktur des Chromosoms, im folgenden als „Struktureiweiß“ bezeichnet. In den Zwischenscheiben sammeln sich während der Telo- und Interphase Eiweißstoffe an, die von der genhaltigen chromatischen Scheibe gebildet worden sind. Diese Synthese kann man sich unschwer als gleichzeitig mit einem Wachstum des „Struktureiweißes“ ablaufend vorstellen. In der Scheibe liegen Nukleinsäureketten in verschiedenen Richtungen orientiert, wobei keine Richtung besonders bevorzugt ist. Der ungeordnete Teil des Heterochromatins, oder wenigstens die Substanz zwischen den Chromosomen läßt in diesem Kern „Struktureiweiß“ vermissen.

Die rein hypothetische Anordnung mit längsverlaufenden (aber nicht notwendigerweise parallelen) Polypeptidketten im Chromosom, welche hauptsächlich aus prinzipiellen Gründen für wahrscheinlich gehalten zu werden pflegt, muß in diesem Falle in der Scheibe durch ein Gebiet unterbrochen sein, in dem die Molekülketten stark gefaltet sind.

Die auf rein hypothetische Annahmen gegründete WRINCHsche Theorie über die Chromosomenstruktur ist bereits von verschiedenen Seiten stark kritisiert worden. Diese Theorie steht in einer Reihe von Punkten im geraden Gegensatz zu den oben angeführten Beobachtungen und der früher postulierten Zusammensetzung des Speicheldrüsenchromosoms (CASPERSSON, vorausgehende Arbeit). Es soll daher darauf hingewiesen werden, daß ihre Grundannahmen bezüglich des Nukleinsäurebaues, wie später gezeigt worden ist, irrtümlich waren. WRINCH sagt über die Nukleinsäure, es sei wahrscheinlich daß dieselbe in einer geschlossenen Ringform oder in einer polymerisierten Form existiere, in der die ringförmigen Gruppen sich aneinander zu einer Oberflächenstruktur anschließen. Nach den Messungen von

SIGNER, CASPERSSON und HAMMARSTEN sowie ASTBURY und BELL ist das Verhalten ein gerade entgegengesetztes, indem die Mononukleotide nicht in einem Ring, sondern hintereinander gebunden werden, also demnach nicht in einer Ebene, sondern zu einer stabförmigen Struktur polymerisiert werden. Hierzu kommt der oben geführte Nachweis, daß eine Orientierung der Mononukleotide senkrecht zur Achse nicht existiert. Diese Umstände dürften eine ins einzelne gehende Diskussion überflüssig machen.

Erörterung der Resultate.

Es ist nachgewiesen worden, daß Polynukleotide zur Vermehrung der Eiweißsubstanzen in den Zelle erforderlich sind. Bei der Genreduktion ist stets die Thymonukleinsäure beteiligt, welche sich vor anderen Nukleotiden durch eine außerordentliche Fähigkeit auszeichnet, die Grundlage einer Längsstrukturierung zu bilden, was die wahrscheinliche Erklärung dafür darstellt, daß gerade diese Substanz die elektive Chromosomensubstanz ist (CASPERSSON 1939).

In der vorausgehenden Arbeit wurde darauf hingewiesen, daß die Schleifenkerne in den Speicheldrüsen gewisser Dipterenlarven als interphasische Kerne mit trotz der Endomitosen beibehaltener Paarung der Chromonemata zu betrachten sind. Diese Kerne müssen daher einen Spezialfall darstellen, indem prinzipiell unmöglich ist, daß sich die Nukleinsäureketten in benachbarten getragenden Komplexen aneinander anschließen könnten, da dieselben durch die aus telophasisch produzierten Eiweiß aufgebauten Zwischenscheiben getrennt sind. Es ist daher am wahrscheinlichsten, wenn auch nicht prinzipiell erforderlich, daß in diesem Spezialfall die Nukleinsäuremoleküle keine absolute Orientierung aufweisen. Dies wird auch dadurch gestützt, daß während des Verlaufs der Endomitosen auch ein gewisses Dickenwachstum der Scheiben in der Längsachse des Chromosoms stattfindet — eine Genvermehrung in nur einer Ebene, von einer fixen längsverlaufenden Struktur bedingt, würde ja eine Scheibe ergeben, welche nur die Dicke eines Gendurchmessers hätte.

Die Beobachtungen mit einer speziell dazu ausgearbeiteten Methode zeigen auch im Einklang zu dem oben angeführten, daß keine, oder nur eine äußerst unerhebliche Orientierung der Thymonukleinsäuremoleküle in den Scheiben bei *Drosophila* vorliegt.

Ob eine solche Orientierung wirklich vor der gewöhnlichen Mitose stattfindet, wäre noch nachzuweisen. Die Polarisationsmikroskopie mit sichtbarem Licht wird wahrscheinlich etwas derartiges nicht zeigen können, da die Effekte in Stadien zu erwarten sind, wo die Chromonemafäden so dünn sind, daß es unmöglich ist, die Doppelbrechung zu beobachten.

Der Umstand, daß im Speicheldrüsenchromosom keine Nukleinsäureorientierung besteht, widerspricht also nicht der Annahme einer speziellen Rolle von Nukleinsäureketten bei der Genreduktion. Dagegen unterstreicht die Beobachtung den Charakter dieses Kerns als Interphasekern

und die Gefahr, aus Beobachtungen an Endomitosen eines solchen Rückschlüsse auf den Bau von Pro- und Metaphasenchromosomen zu ziehen. Dasselbe gilt von der Eiweißstruktur. Wenn man annimmt, daß Nukleinsäureketten bei der Eiweißsynthese beteiligt sind, so ist notwendigerweise ein Wechsel von gestreckten und gefalteten Formen während der verschiedenen Stadien der Mitose und Interphase anzunehmen.

Das Fehlen einer strengen Orientierung im Speicheldrüsenchromosom schließt, wegen der Ausnahmestellung dieser Kerne, also keineswegs die Möglichkeit einer solchen in einem Stadium während der Mitose aus. Es muß aber hervorgehoben werden, daß es gar nicht notwendig ist, daß eine Beteiligung von Nukleinsäureketten bei der Eiweißsynthese als ein im Mikroskop beobachtbares Polarisationsphänomen zum Vorschein kommt. Die Möglichkeit besteht und ist sogar die wahrscheinlichere, daß die Ketten, die wirksam sind, so kurz sind, daß diese Orientierung nur in so kleinen Gebieten stattfindet, daß sie nicht beobachtbar sind. Eine Kette von der Länge $0,02 \mu$, die weit unter dem Auflösungsvermögen des Mikroskops liegt, würde die Streckung von einer Eiweißkette mit einem Molekulargewicht von mehreren Tausend gestatten, und es gibt keinen Grund, anzunehmen, daß die Streckung von längeren Ketten für die Eiweißreproduktion notwendig sei.

Zusammenfassung der Experimente.

Es wird nachgewiesen, daß die Thymonukleinsäure einen starken Dichroismus im Ultraviolett hat, was darauf beruht, daß die absorbierenden Gruppen im Molekül im Verhältnis zur Achse des langgestreckten Moleküls streng regelmäßig orientiert sind. Ein ähnlicher, viel schwächerer Effekt wurde bei Hefe und Pankreaspolynukleotidpräparaten beobachtet, also bei weit niedrigermolekularen verwandten Substanzen.

Durch photographische oder photoelektrische Messung der Absorption eines Kernteiles mit polarisiertem Licht in zwei zueinander senkrechten Schwingungsrichtungen mittels des früher von CASPERSSON beschriebenen Instrumentariums zur Ultraviolett-spektrographie von Zellteilen kann bestimmt werden, ob die Thymonukleinsäuremoleküle orientiert sind sowie, in welchem Grade dies der Fall ist. Die Apparatur ist eigentlich zum näheren Studium der Rolle der Nukleinsäureketten bei der Genreproduktion im Chromosom bestimmt. Die erwarteten Effekte liegen nahe an der Grenze des Meßgebiets der gewöhnlichen Polarisationsmikroskopie. Die hier angegebene Technik unterscheidet sich von der letzteren dadurch, daß sie 1. etwa 50mal empfindlicher, 2. chemisch spezifisch ist und 3. eine direkte Messung des Orientierungsgrades gestattet.

Vorläufige Untersuchungen an Speicheldrüsenchromosomen von *Drosophila melanogaster* ergaben, daß keine Orientierung vorlag, welche vollständige Orientierung von 5% der Moleküle (was in diesem Falle die Empfindlichkeitsgrenze der Methode war) überschritt. Es wird gezeigt,

daß die früheren polarisationsoptischen Messungen dieser Annahme nicht widersprechen. Die Nukleinsäuremoleküle in den nukleinsäurereichen Scheiben sind folglich nicht regelmäßig in einer längsverlaufenden Struktur angeordnet. Daß wenigstens die Hauptmasse des Eiweißes in einer solchen mit ziemlich geraden Polypeptidketten angeordnet sein sollte, ist demzufolge weniger wahrscheinlich. Ob dies auch für eigentliche Prophasenchromosomen gilt, läßt sich noch nicht entscheiden.

Die doppeltbrechenden Spermienköpfe bei einer untersuchten Heuschreckenart enthalten einige 10% Thymonukleinsäure, weshalb die Doppelbrechung und der Dichroismus, welche einer nahezu vollständigen Orientierung entsprechen, während des physiologischen Schrumpfungsprozesses zustande gekommen sein dürften, der bei der Ausbildung der endgültigen Kopfform vor sich geht.

Für die Bedeutung dieser Resultate für die Frage der Rolle der Desoxyribosenukleotide bei der Genteilung sei auf die Erörterung (S. 617) verwiesen.

Literatur.

- Altburg: Amer. Naturalist 71 (1937). — Astbury: Annual Rev. Biochem. 8, 124 (1939). — Astbury and Bell: Nature (Lond.) 141, 747 (1938). — Caspersson: Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) Suppl. 8 zu 73 (1936); 77 (1937). — Fortschr. Zool. 2, 270 (1937). — Chromosoma 1, 147 (1939). — Internat. Congr. Genetic. Edinburgh 1939. — Caspersson, Jungner u. Nyström: Im Druck. — Caspersson and Schultz: Nature (Lond.) 142, 294 (1938); 143, 602 (1939). — Arch. exper. Zellforsch. 22, 650, 655 (1939). — Hammarsten, E.: Biochem. Z. 144, 383 (1924). — Hammarsten, E., G. Hammarsten u. T. Teorell: Acta med. scand. (Stockh.) 68, 219 (1928). — Jorpes u. Myrbäck: Z. physiol. Chem. 237, 159 (1935). — Keller: Zit. nach Schmidt. — Kuwada u. Nakamura: Cytologia 6 (1934); 9 (1938). — Nakamura: Cytologia Fujii Jb. 482 (1937). — Pfeiffer: Chromosoma 1, 526 (1940). — Schmidt, W. J.: Die Doppelbrechung von Karyoplasma. Protoplasmanomographien 11 (1937). — Naturwiss. 25, 506 (1937). — Naturwiss. 26, 413 (1938). — Chromosoma 1 (1939). — Signer, Caspersson and Hammarsten: Nature (Lond.) 141, 122 (1938).

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie, Abt. Hartmann, Berlin-Dahlem.)

ÜBER DIE CHROMOSOMEN DER BISEXUELLEN UND DER PARTHENOGENETISCHEN RASSE DES OSTRACODEN HETEROCYPRIS INCONGRUENS RAMD.

Von

HANS BAUER.

Mit 17 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. November 1940.)

Dem Andenken an Geheimrat Prof. Dr. G. W. Müller (1857–1940) gewidmet.

I. Einleitung.

Die Cytologie der Ostracoden ist nur in einigen Arbeiten aus WEISMANNs Mitarbeiterkreis untersucht worden, doch sind in diesen durch WOLTERECK (1898) und SCHLEIP (1909) die Oogenese, durch MÜLLER-CALÉ (1913) die Furchung und durch SCHMALZ (1912) die Spermatogenese in ihrem allgemeinen Verlauf vollständig aufgeklärt worden.

Die Untersuchung, über die im folgenden berichtet wird, ging von einer fortpflanzungsbiologischen Fragestellung aus. Seit den Arbeiten von MÜLLER (1880) und WEISMANN (1880) ist bekannt, daß viele Ostracodenarten sich ausschließlich parthenogenetisch vermehren und daß diese Fortpflanzungsart nie im Generationswechsel durch zweigeschlechtliche Vermehrung abgelöst wird. Viele Arten kommen in Mittel- und Nordeuropa überhaupt nur als Weibchen vor. Von der Art *Heterocypris (Cyprinotus) incongruens* RAMD. dagegen treten an manchen Fundorten auch Männchen auf. Eine experimentelle Untersuchung führte WOHLGEMUTH (1914) zu der Auffassung, daß bei dieser Art ein langfristiger Generationswechsel vorliege. Er gibt an, daß es ihm in Laboratoriumszuchten gelungen sei, den Übergang von der bisexualen zur parthenogenetischen Vermehrung zu verfolgen und den umgekehrten Wechsel aus Freilandbeobachtungen wahrscheinlich zu machen.

Um diese Angaben nachzuprüfen, wurde neben einer Beobachtung des Fortpflanzungsverhaltens in Dauerkulturen in erster Linie die cytologische Analyse durchgeführt, um von dieser Seite her gegebenenfalls schon die Möglichkeiten eines Generationswechsels auszuschließen.

Bei dieser Untersuchung ergab sich als überraschender Befund der Nachweis eines komplizierten Geschlechtschromosomen-Apparates über den ich (1934) schon kurz berichtet habe. Seine nähere Beschreibung bildet den Schwerpunkt der folgenden Darstellung.

Die Arbeit wurde auf Veranlassung von Herrn Prof. HARTMANN während eines Stipendiums der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft 1932 begonnen. Andere Aufgaben hatten ihre Fertigstellung bisher immer aufgeschoben.

II. Herkunft der Tiere und Untersuchungsverfahren.

Die zweigeschlechtliche Form von *Heterocypris incongruens* stammt einmal aus Wackerow bei Greifswald, wohin Herr Geheimrat MÜLLER sie vor etwa 30 Jahren aus Schwichtenberg i. Mecklenburg verpflanzt hatte. Der zweite Fundort war Ettersburg bei Weimar, woher ich Material selbst einbrachte und weiteres von Herrn KLEIE erhielt.

Die parthenogenetische Form wurde aus einem Teich in Berlin-Dahlem, aus der Sapskuhle auf Helgoland und aus einem Almtümpel bei Partenkirchen erhalten, woher Herr Prof. THIENEMANN sie mit anderen Tieren nach Plön gebracht hatte (vgl. THIENEMANN 1936)¹.

Die Tiere wurden im Laboratorium weitergezüchtet. Als Kulturmedium bewährte sich die in unserer Abteilung übliche Erdabkochung (5% in doppelt-dest. Wasser). Als Futter dienten Kulturen der Volvocineae *Gonium pectorale*.

Zur Untersuchung der Spermatogenese wurden junge ♂♂ oder ♂♂-Larven des letzten Stadiums verwandt. Die beste Fixierung, die wegen der Kalkeinlagerung der Schalen schwierig ist, wurde durch 1–3 Min. lange Vorfixierung in Carnoy (6:3:1) und Nachfixierung in Bouin-Allen erreicht. Gefärbt wurde vorwiegend nach Heidenhain, daneben nach Feulgen. Die Eireifung wurde teils an ebenso fixierten ♀♀, vorwiegend an abgelegten Eiern untersucht. Zur Eiablage wurden in Schalen mit vielen reifen ♀♀ Stückchen von *Lemna trisulca* oder von ausgefalteten Laubblättern eingelegt, die über Nacht reichlich mit Eiern besetzt wurden. Die Fixierung geschah in warmem (60°) Bouin-Allen. Gefärbt wurden die Eier schließlich nach Feulgen — Die Einbettung wurde in allen Fällen nach PÉTERFIS Methylbenzoat-Celloidinmethode vorgenommen.

III. Befunde.

1. Die Spermatogenese.

Die genaue Darstellung von SCHMALZ über den Bau der Hoden und den Ablauf der Spermatogenese bei *Notodromas monacha* erlaubt es, hier nur auf die Unterschiede zwischen dieser Art und *Heterocypris incongruens* einzugehen.

Die vier in jeder Schalenduplikatur liegenden Hodenschläuche sind bei *Heterocypris* etwas schlanker; die Spermatocyten wachsen erheblich stärker heran, so daß sie in einfacher Reihe hintereinander liegen. Dies ist auch der Grund dafür, daß nur sehr wenige Zellen eines jeden Tieres gleichzeitig in einem der Reifeteilungsstadien angetroffen werden.

Die Frühstadien sind auch bei *Heterocypris* nicht analysierbar. Die Spermatogonien sind sehr klein, gering an Zahl und selten in Teilung anzutreffen. Die Kerne, von unregelmäßiger Kugelform, haben einen Durchmesser von nur 5–6 μ . Analysierbare Äquatorialplatten wurden nicht gefunden. Auch die frühen Wachstumsstadien lassen keine genaue Untersuchung zu. Oft zu beobachten ist eine bukettartige Phase. Nach

¹ Den genannten Herren bin ich für die Überlassung des Materials großen Dank schuldig. Besonders dankbar gedenke ich Herrn Geh.-Rat MÜLLERS, der mich trotz seines hohen Alters persönlich beim Sammeln anleitete und immer zu hilfreicher Unterstützung bereit war.

ihrer Auflösung setzt das sehr starke Kernwachstum ein; schon bald, während der Vergrößerung auf den doppelten Durchmesser, lockern sich die Chromosomen weit auf; gleichzeitig beginnt der Nukleolus sich zu vergrößern. Die Chromosomen lassen sich bald nur noch sehr blaß färben (sowohl nach Heidenhain als auch Feulgen). Anfangs bleiben noch wenige, kleinere Chromosomenabschnitte kompakt. Es läßt sich vermuten, daß sie heterochromatischen Teilen entsprechen; doch ist eine Zurückführung auf bestimmte Chromosomen nicht möglich.



Abb. 1. Spermatocyte am Ende der Wachstumsphase. Der helle Hof am oberen Kernpol kennzeichnet die Lage des einen Centrosoms. Die dunklen, teils groben Granulationen sind Mitochondrien. Vergr. etwa 900 \times .

Beim weiteren Kern- und Zellwachstum werden die Chromosomen schließlich so weit aufgelockert, daß sie sich im Kernraum nicht mehr darstellen lassen. Der Kern ist dann völlig homogen; nur der große, häufig gelappte, regional färbereich unterschiedlich reagierende Nukleolus ist als geformtes Element deutlich.

In diesem Zustand wird die restliche Wachstumsphase durchlaufen. Für diese bisherige Entwicklung der Spermatocyten lassen sich die Bilder von SCHMALZ fast vollständig als Illustration heranziehen. Die Größe der teilungsbereiten Spermatocyten, deren Form durch den Druck der Spermien stark gestreckt werden kann, ist erheblich. Die in Abb. 1 dargestellte Zelle, die kurz vor der Teilung steht, mißt 67 μ in der Länge und 40 μ in der Breite, der Kern 30 \times 20 μ . Das Kernwachstum

führt also auf fast das 100fache des Spermatogonienkernvolumens.

Über die Chromosomenverhältnisse geben erst die späten Prophasen unmittelbar vor den Reifeteilungen Aufschluß. Noch bevor am Kern irgendwelche Veränderungen zu sehen sind, zeigt sich der baldige Teilungsbeginn durch das Auftreten der Centrosomen an den beiden Polen des Kerns an. Diese zeichnen sich dadurch deutlich ab, daß die Mitochondrien¹ sich um sie in Form von Kugelschalen ansammeln. Den Anfang hiervon zeigt die Abb. 1. Die Kernveränderungen beginnen damit, daß die Chromosomen frei im Kernraum als zarte Strukturen auftauchen. Das früheste

¹ Die Ostracoden sind durch die Anwesenheit von zahlreichen großen Mitochondrien sowohl in den Soma- als auch in den Keimzellen ausgezeichnet. — Die hellen Flecke und Streifen, die SCHMALZ in seinen Abbildungen wiedergibt, entsprechen zerstörten Mitochondrienmassen (vgl. Abb. 1).

aufgefundene Stadium ist in Abb. 2 dargestellt. Hier zeigen sich im Kern 5 Chromosomenkonfigurationen, die einzeln herausgezeichnet in Abb. 2b wiedergegeben sind. Vier von ihnen stellen normale Tetraden dar, von denen die größte (I) ein subterminales Chiasma aufweist; sie



Abb. 2. Spermatocyte I. Beginn des Wieder-sichtbarwerdens der Chromosomen (Schrägschnitt).

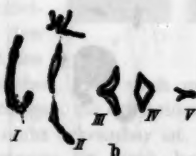


Abb. 3. Spermatocyte I. Etwas späteres Stadium als Abb. 2. N Nukleolen, M Mitochondrienkappe.

An den durch gestrichelte Linien angegebenen Stellen waren die Chromosomen zerschnitten. a Gesamtansicht; b die einzelnen Chromosomen. Vergr. a etwa 1600 \times , b etwa 3600 \times .

ist gekennzeichnet durch eine deutliche Einschnürung am Ende jedes Partners. Die drei kleineren Tetraden (III—V) haben anscheinend schon voll terminalisierte Chiasmata. Einen merkwürdigen Anblick bietet die fünfte Chromosomengruppe (II). An einem Ende von zwei hintereinander liegenden Stäbchen tritt eine unregelmäßige büschelförmige Gruppe auf; alle Teile dieser Chromosomengruppe sind zarter als die übrigen Chromosomen. Ihre Natur zeigt sich in der späteren Entwicklung.

Auf dem Stadium der etwas weiter vorgeschrittenen Prophase der Abb. 3 erscheint die Kernmembran unregelmäßig dick; am zartesten ist sie in der Nähe der durch die Mitochondrienschalen markierten Centrosomen. Auch der Nukleolus (*N*) ist weiter verkleinert als in dem Stadium der Abb. 1; von ihm sind Bruchstücke abgesprengt (eines ist rechts oben im Kern vorhanden). Die Chromosomen (Abb. 3b) sind glatter begrenzt. Die Tetrade I hat ein terminalisiertes Chiasma, dessen Ort allerdings wegen vollständiger Endvereinigung nicht erkennbar ist (daß es sich aber nicht etwa um ein Diplotänstadium oder ähnliches handelt, ergibt sich auch aus den an beiden Enden vorhandenen Einschnürungen). Die Chromatiden sind stellenweise getrennt sichtbar. Diese Erscheinung ist noch deutlicher an den Tetraden III und IV, bei denen die weit



Abb. 4. Chromosomen-
gruppe II aus einem
Prophasekern.
Vergr. etwa 3600 \times .

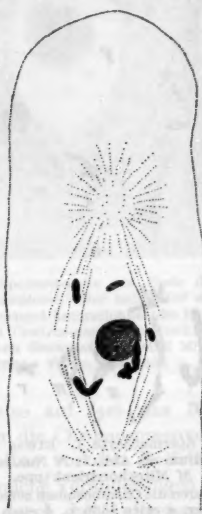


Abb. 5. Spermatocyte I. Frühe Pro-
metaphase. Vergr. wie Abb. 2.

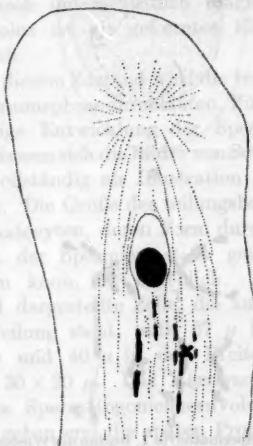


Abb. 6. Spermatocyte I. Späte Pro-
metaphase. Vergr. wie Abb. 2.

gespreizte Stellung der Chromatiden auffällt. Es hat den Anschein, als ob die Sichtbarkeit des Chromatidenbaues ein Kennzeichen dieses Stadiums

ist. Die Chromosomengruppe II läßt jetzt ihren Aufbau klarer erkennen. Sie besteht aus zwei nur noch durch einen dünnen Faden vereinigten Chromatidenpaaren, denen (oben in der Abbildung) eine Gruppe von kurzen Chromosomen, ebenfalls mit einem zarten Faden verbunden, ansitzt. Es lassen sich an ihr fünf Enden erkennen. Abb. 4 zeigt diese Gruppe aus einem anderen Kern gleichen Stadiums. Hier ist die fünfstrahlige Gruppe noch klarer.

Während der Prometaphase (Abb. 5) hat die Auflösung der Kernmembran gleichzeitig mit dem Beginn der Spindelausbildung eingesetzt.

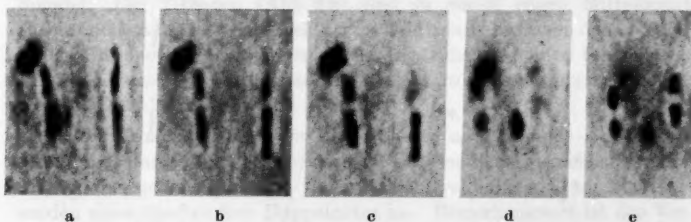
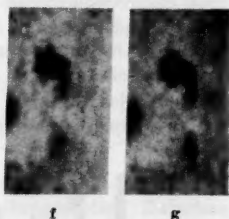


Abb. 7a—g. Chromosomen der Metaphase I.
a—e Gesamtbestand einer Zelle in 5 Stufenaufnahmen;
f, g Chromosomengruppe II aus einer anderen Zelle in
2 Einstellungen. Verg. etwa 3000 \times .



Um die Reste der Kernmembran, die beiderseits zu den von einer Polstrahlung umgebenen Centrosomen hin ausgezogen sind, liegt ein noch nicht geschlossener Mantel von Spindel-fasern. Im zentralen Bereich zwischen den Chromosomen ist noch ein großer Restteil des Kernes mit dem Nukleolus erhalten geblieben. Die noch ungeordnet liegenden Chromosomen sind jetzt sehr gedrungen. Sie erscheinen sämtlich als kurze Stäbchen, deren Tetradenatur nicht erkennbar ist. Auch die dem Chromosom II anhängende Fünfergruppe ist stark kontrahiert. Die Weiterentwicklung zur Metaphase hin zeigt Abb. 6. Im oberen Teil der jetzt sehr langen Spindel liegt noch ein taschenförmiger Rest der Kernmembran, die den Nukleolus einschließt. Die Tetraden sind parallel zur Spindelachse, aber noch in verschiedener Höhe angeordnet. Die Tetradenhälften sind weit auseinandergerückt; irgendeine chromatische Verbindung zwischen ihnen ist nicht sichtbar.

Von der Metaphase der 1. Reifeteilung (Abb. 7 und 8) ist in Abb. 7a—e in fünf Stufenaufnahmen der zentrale Teil einer Spindel wiedergegeben. Alle Chromosomen, auch das mit der terminalen Gruppe, erweisen sich als Stäbchentetraden. Ihre Spindelansätze müssen also ganz oder sehr nahe am Ende liegen. Die V. Tetrade zeigt noch eine Vereinigung ihrer

Hälften, die vielleicht auf ein subterminales Chiasma hindeutet. Alle anderen lassen keine klare Verbindung der Dyaden erkennen. Ebenso erscheint die terminale Gruppe nicht unmittelbar mit der II. Tetrade

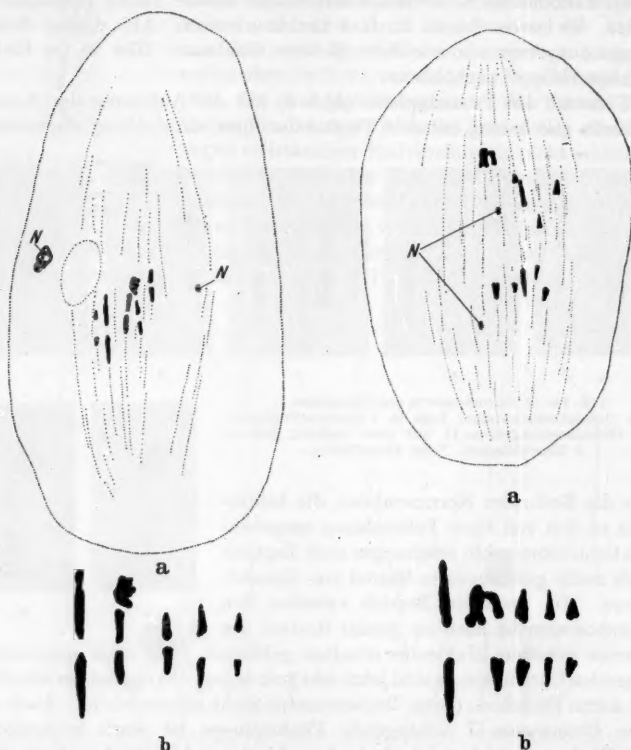


Abb. 8. Spermatocyte I. Metaphase.

Abb. 9. Spermatocyte I. Mittlere Anaphase.

N Nukleolenreste. Vergr. wie Abb. 2.

verbunden zu sein. Um jedes Chromosom herum zeigt sich ein ungefärbter Raum; am deutlichsten ist er bei I (Abb. 7a) und III, IV (Abb. 7c). Auch in Abb. 4 ist er wiedergegeben. Die Natur dieses achromatischen Bereiches, den ich früher (1934) als Chromosomenhülle angesprochen habe, ist nicht klar. Daß er nicht auf einer Schrumpfung der Chromosomen beruht, ergibt sich aus seinen Ausmaßen. Jedoch sind die Verhältnisse zu ungünstig, um den Nachweis für das Vorhandensein einer selbständigen Hüllstruktur zuzulassen.

Die Tetrade mit der terminalen Gruppe zeigt aus einer anderen Metaphase die Abb. 7f, g in zwei Einstellungen; die anhängende Gruppe ist hier in Aufsicht zu sehen; sie ist blumenkronartig und läßt 4 Zipfel deutlich, den 5. überdeckt erkennen.

In der Abb. 8 ist eine etwas frühere Metaphase vollständig wiedergegeben. Die lange Spindel, die bis an die Enden der jetzt mehr abgerundeten und verkürzten Zellen reicht, zeigt keine Polstrahlung mehr. Die Kernreste scheinen aus der Spindel ausgestoßen zu sein. Außer einer kleinen Membranblase liegt nur ein Nukleolenrest in der Randzone der Spindel. Die Tetraden (Abb. 8b) sind in einem engen Mittelbezirk angeordnet. Auch hier zeigt sich der große Abstand zwischen den Dyaden. Einige Chromosomenmessungen in der Metaphase ergaben folgende als nur angenähert anzusehende Längen für die Einzelchromosomen (Dyaden): I 5,5, II 4, III 3,3, IV 3 und V 2,3 μ .

In der Anaphase, von der das früheste aufgefundene Stadium in der Abb. 9 dargestellt ist, rücken die Hälften der einzelnen Tetraden anfangs unregelmäßig zu den Polen. Alle Dyaden zeigen am Sichtbarwerden eines Spaltes ihre Doppelnatur an. Bemerkenswert ist das Verhalten der Tetrade II: Die auch weiterhin dem Spindelansatzende einer der Dyaden ansitzende terminale Gruppe wird passiv nachgeschleppt. Die 5 Stäbchen sind dabei zu einem Bündel zusammengeklappt. Am Ende der Anaphase (Abb. 10) liegen die Chromosomen außerhalb des mittleren Spindelrestes. Die Zweiteiligkeit der Dyaden ist jetzt sehr deutlich (Abb. 10). Der Zusammenhang zwischen der terminalen Gruppe und der Trägerdyade bleibt bestehen.

Zu Beginn der Interkinese lockern sich die Chromosomen auf (Abb. 11). Sie erscheinen erheblich größer als während der Teilungsstadien. Zwischen den distalen Enden der Chromatiden kommt dann leicht ein Kontakt zustande, so daß Ringformen erscheinen. Die terminale Gruppe erscheint dadurch in diesem Falle wie ein kontinuierlicher gewundener Faden. Diese Veränderungen stellen den Beginn der Umbildung der Dyaden zu Karyomeren dar. Dieser Vorgang gleicht wieder genau dem von SCHMALZ beschriebenen Ablauf bei *Noiodromas*, ebenso die Wiederausbildung der Chromosomen zu Beginn der 2. Reifeteilung. Die besonderen Verhältnisse zeigen sich erst, wenn die Chromosomen wieder Metaphasegestalt angenommen haben. Die Abb. 12 und 13 geben frühe Metaphasen der 2. Reifeteilung wieder. Die Besonderheit des Hodenbaues von *Heterocypris* erlaubt eindeutig die Zuordnung der Spermatoeyten II zueinander, da auch auf diesem Stadium die Zellen noch hintereinander im Hodenschlauch liegen. Die abgebildeten Zellen stellen Abkömmlinge derselben Spermatoeyte I dar. In beiden ist die Einordnung der Chromosomen noch nicht vollendet. Die Chromosomen weisen die übliche Form der 2. Reifeteilung auf; ihre Chromatiden hängen nur an den

Spindelansätzen zusammen. Die Zelle der Abb. 13 hat in der 1. Reifeteilung 5 Dyaden erhalten, die Schwesterzelle (Abb. 12) 5 Dyaden mit der terminalen Gruppe. An der Chromosomenzahl zeigt sich, daß diese

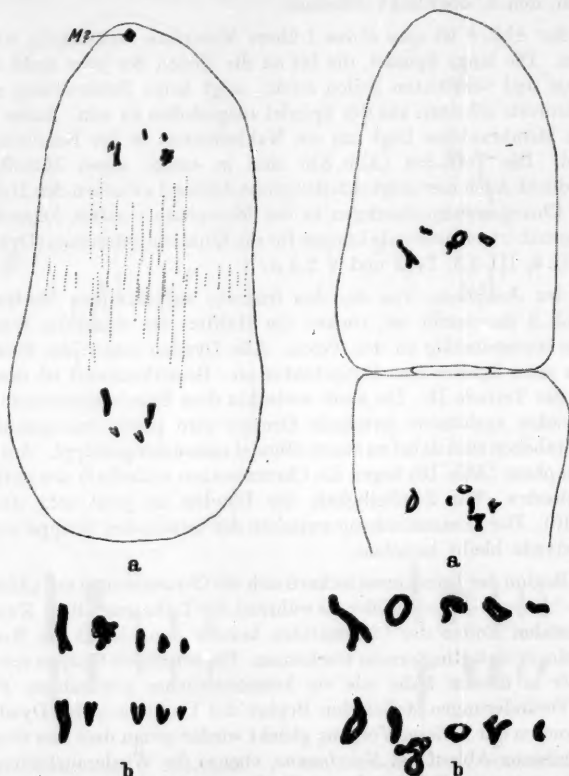


Abb. 10. Spermatocyte I, Ende der Anaphase. *M* wohl Ballungskörper der Mitochondrien.

Abb. 11. Geschwister-Spermatocyten II zu Beginn der interkinetischen Karyomerenbildung.

Vergr. wie Abb. 2.

jetzt in ihre Elemente zerfallen ist. Außer den gewöhnlichen 5 Dyaden finden sich weitere fünf mit X_1-X_5 bezeichnete (vgl. S. 634), deren größte der kleinsten der anderen fünf gleichkommt. Auch diese kleinen Chromosomen haben terminale Spindelansätze, wie sich aus ihrer V-Form ergibt, die ebenso zustande kommt wie die der anderen Dyaden (Spreizung der Chromatiden, Zusammenhalt nur am Spindelansatz). Die Seltenheit

dieser Stadien hat es nicht ermöglicht, die Anaphase in den Zellen mit 10 Chromosomen vollständig zu verfolgen. Es kann aber nach allen Beobachtungen kein Zweifel daran bestehen, daß sich alle Chromosomen normal teilen und daß so 2 Arten von Spermatiden mit 10 bzw. 5 Chromosomen gebildet werden.

Die Umwandlung der Spermatiden in die Riesenspermien darzustellen, liegt außerhalb des Zieles dieser Arbeit. Die Veränderungen am

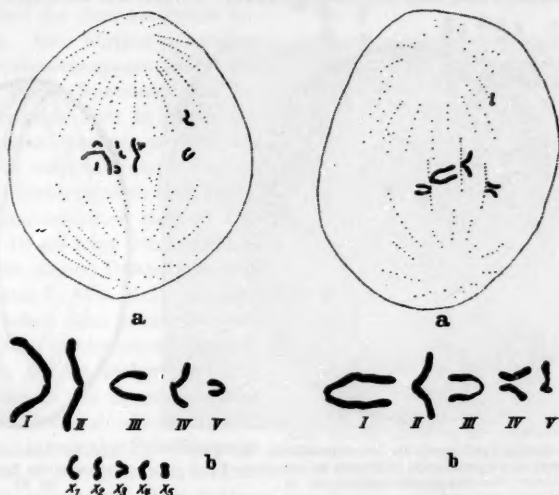


Abb. 12. Abb. 13.
Abb. 12 und 13. Spermatocyten II in Prometaphase, mit 10 (Abb. 12) und 5 Dyaden (Abb. 13). Vergr. wie Abb. 2.

Kern ähneln sehr den von SCHMALZ bei *Notodromas* festgestellten. Im Spermatidenkern sind die Chromosomen anfangs so stark aufgelockert, daß der Kern keine Nuklealfärbung gibt. Während der beginnenden Zellstreckung ballen sich dann die Chromosomen zu einem walzenförmigen Körper, dem „chromatischen Stäbchen“ SCHMALZ' zusammen. Aus diesem entsteht im fertig ausgebildeten Spermium ein dem Kopf geißelförmiger Spermien gleichender dünner Chromatinfaden, der am Vorderende des Spermiums (und des Spermienkopfes) liegt und dem bei der Wicklung der Längsbänder des Spermiums ebenfalls eine langspiralige Windung aufgezwungen wird.

Die Ostracoden besitzen bekanntlich von allen Tieren die größten Spermien, die bei der Art *Pontocypris monstrosa* im Mittel 6 mm lang sind (G. W. MÜLLER, 1894). Diese werden noch übertroffen durch die

Spermien einer australischen Art¹, die, wie eigene Messungen zeigten, die erstaunliche Länge von 1 cm erreichen. Trotz dieser außerordentlichen Größe der Ostracodenspermien ließ sich nun bei *Heterocypris* feststellen, daß die Spermien bei der Befruchtung vollständig in das Ei eintreten². Hierin liegt die erstaunlichste Ausnahme von der Regel, daß nur Teile des Spermiums, Kopf und Mittelstück, aufgenommen werden, der Schwanz aber abgestoßen wird. Im Ei, das die Form eines Rotationsellipsoids aufweist, muß sich das Spermium — es gibt nur Monospermie —

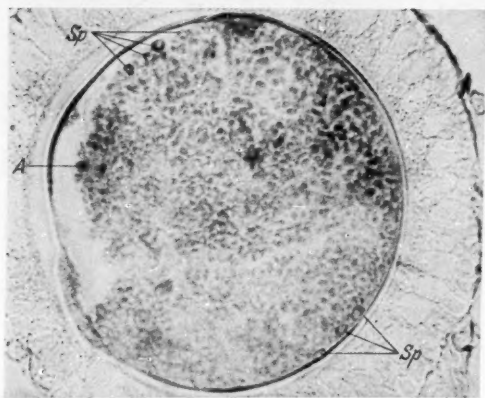


Abb. 14. Querschnitt durch ein befruchtetes Ei. *Sp* Querschnitte des Spermiums, *A* Eikern in Anaphase I. Vergr. etwa 480 ×.

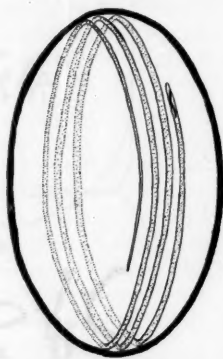


Abb. 15. Schema der Anordnung des Spermiums im Ei.

wegen seiner Länge mehrfach aufwinden. Infolge der Elastizität der Spiralbänder ordnet es sich dabei parallel zur Längsachse des Eies und liegt in etwa $3\frac{1}{2}$ Windungen der Membran eng angepreßt, wie es der Querschnitt durch ein Ei (Abb. 14) und das Schema (Abb. 15) zeigen.

2. Die Eireifung.

Die Reifeteilungen im Ei der bisexualen Form vollziehen sich in der gleichen Weise wie sie SCHLEIP bei *Notodromas monacha* beobachtet hat, so daß auf Einzelheiten hier verzichtet werden kann. Im frisch abgelegten Ei liegt fast stets das Stadium der Metaphase I vor. Auf diesem

¹ Das Material verdanke ich Herrn KRYUT. Es stammt aus Salzproben aus Lake Voigt, Süd-Australien. Nach freundlicher Mitteilung von Fräulein Dr. RUINEN handelt es sich wahrscheinlich um *Cypris Sydnea* KING.

² SCHLEIP hat diese Tatsache zweifellos schon beobachtet, doch erwähnt er sie nur indirekt im Kapitel „Material und Methode“ durch die ausdrückliche Bemerkung, daß sich in den Eiern der parthenogenetischen Formen keine Spermatozoen nachweisen ließen.

lassen sich besonders klar in Polansichten fast ausnahmslos 10 Tetraden feststellen (Abb. 16a). Die Tetraden haben stets Stäbchenform und zeigen abgestufte Größenverhältnisse. Über die relative Länge gibt am klarsten die Anaphase I in Seitenansicht Auskunft (Abb. 16b). Es fallen 2 Dyadenpaare durch besondere Größe auf, von denen eines besonders lang ist. Diese Tetraden entsprechen den beiden größten der Spermatogenese. Die übrigen 8 Tetraden sind kleiner bis sehr klein; 3 von ihnen sind den 3 kleinen Tetraden der Spermatocyten homolog. Die übrigen 5 stellen 5 Chromosomenpaare dar, von denen in den Spermatocyten nur ein einfacher Satz in Form der terminalen Gruppe an der Tetrade II vorhanden ist.

Die Tochterplatten der 1. Reifeteilungen enthalten stets 10 Dyaden. Dieses zeigt sich besonders deutlich an den Polansichten der Anaphase I (Abb. 16c). Alle Dyaden haben dann gestreckt ovale Form oder erscheinen als Doppelkugeln. Da die Analyse der Chromosomen in der Spermatogenese gezeigt hat, daß sie alle einen (wohl nur fast) terminalen Spindelansatz besitzen, so beruht die sich bei Polansicht anzeigende Doppelnatur auf einer Parallellage der beiden die Dyade aufbauenden Chromatiden. Die Beobachtung der anaphasischen Dyaden ist wichtig, da

die 2. Reifeteilung in den Präparaten sehr selten ist, wie auch SCHLEIP feststellen mußte, und kaum Zählungen erlaubt. Der einzige Fall, in dem mit großer Wahrscheinlichkeit für jede Tochterplatte in der Anaphase II 10 Chromosomen nachgewiesen werden konnten, ist in Abb. 16d wiedergegeben. Die Dyadennatur der Chromosomen in der Anaphase I ließ sich aber in allen klaren Platten erkennen. Die diploide Chromosomenzahl der ♀♀ beträgt demnach 20, die sich zu 10 Tetraden vereinigen. An Paarungsunregelmäßigkeiten kam nur einmal unter vielen Fällen eine Metaphase I zur Beobachtung, in der neben 9 Tetraden 2 Univalente auftraten; je eines lag in jeder Halbspindel.

Die unmittelbare Feststellung der somatischen Chromosomenzahl ließ sich nicht durchführen, da die Chromosomen der Furchungsteilungen



Abb. 16 a-e. Eireifung der bisexualen Form. a Metaphase I in Polansicht, b frühe Anaphase I in Seitenansicht (die Chromosomenpaare nicht in natürlicher Lage, sondern nebeneinander gezeichnet), c₁, mittlere Anaphase I in Polansicht, die Tochterplatten getrennt dargestellt, d Anaphase II in Schrägansicht (die Punktlinie trennt die Tochterplatten), e frühe Metaphase der 1. Furchungsteilung im ♂-Ei. Vergr. etwa 3600 x.

mei tens sehr lang und dünn und auf engem Raum zusammengedrängt sind. Einmal fand sich dagegen eine Pro-Metaphase der 1. Furchungsteilung einer ♂-Zygote, in der sich in noch gonomerer Anordnung deutlich die 5 Chromosomen des männlichen und die 10 des weiblichen Vorkerns erkennen ließen (Abb. 16e). Für das ♂ ist damit die somatische Zahl 15 direkt nachgewiesen.

Die Eier der parthenogenetischen Form machen, wie bereits WOLTERECK und MÜLLER-CALÉ gezeigt haben, nur eine Reifeteilung durch. Die von diesen beiden Untersuchern angegebene Chromosomenzahl $2n = 12$ schien die Ausgangsfrage nach der Beziehung zwischen der bisexuellen und der parthenogenetischen Form bereits im negativen Sinne geklärt zu haben. Es zeigte sich aber, daß entgegen diesen Angaben auch im



Abb. 17 a—c. Eireifung der parthenogenetischen Form. a, b Prophasen, c Metaphase (a Partenkirchner, b, c Berliner Stamm). Vergr. etwa 3600 \times .

parthenogenetischen Ei die Chromosomenzahl 20 vorliegt. Die Ablage erfolgt sehr oft im Stadium der Prophase, in der die Chromosomen noch wandständig im Kern angeordnet sind und so eindeutige Zählungen erlauben. Sowohl in dem Berliner als auch in dem Partenkirchner Stamm ließ sich die Zahl 20 feststellen. Abb. 17a, b zeigen Prophasen, Abb. 17c eine Metaphase mit 20 Chromosomen. Aus diesen Abbildungen geht hervor, daß die Chromosomen keine Tetraden- bzw. Dyadenform annehmen, sondern sich wie somatische Chromosomen (vgl. Abb. 16e) in die Äquatorialplatte einordnen. Neben den Stadien mit 20 Chromosomen ließen sich mit Sicherheit auch solche mit 21 Chromosomen, beide im Berliner Material, wie im Partenkirchner Stamm, nachweisen (von den Helgoländer Kulturen lagen keine geeigneten Präparate vor). Da die Präparate von langjährig gehaltenen Kulturen hergestellt worden sind, handelt es sich wahrscheinlich um erhalten gebliebene Verteilungsunregelmäßigkeiten.

Der Chromosomenbestand der parthenogenetischen Form zeigt insofern eine große Ähnlichkeit mit dem der bisexuellen ♀♀, als auch hier ein Paar besonders langer Chromosomen vorkommt und auch unter den übrigen sich gelegentlich noch ein größeres Paar von dem Rest unterscheiden läßt. Von den Angaben MÜLLER-CALÉs, der 12 mehr oder

weniger gleich große Doppelkugeln als kennzeichnend beschreibt, unterscheiden sich die hier mitgeteilten Befunde vollständig¹.

Auch in den Furchungsteilungen ließen sich in brauchbaren Stadien immer mit Sicherheit mehr als 12 Chromosomen, in den deutlichsten (wenn auch nicht zur Bildwiedergabe geeigneten) Fällen 19–20 erkennen.

IV. Besprechung.

1. Die Geschlechtschromosomen.

Mit dem Nachweis eines Unterschiedes der Chromosomenzahl beider Geschlechter (BAUER 1934) ist an *Heterocypris incongruens* der erste sichere Befund von Geschlechtschromosomen bei Crustaceen erhoben worden. Alle früheren Angaben, besonders für Copepoden und Decapoden (vgl. SCHRADER 1928, DELPINO 1934, LEOPOLDSIEDER 1934), sind, da in keinem Fall die 2. Reifeteilung vollständig analysiert worden ist, nicht beweiskräftig. Erst die sehr minutiösen Untersuchungen NIYAMAS haben in der Folgezeit (1937, 1938) für einige Decapoden den Beweis des Vorkommens eines einfachen X-Y-Mechanismus erbracht (*Plagusia dentipes*, *Eriocheir japonicus*, *Hemigrapsus sanguineus*). Alle 3 Arten gehören zur Familie Grapsidae. Für andere Decapoden zeigte NIYAMA in vorangehenden Arbeiten, daß sicher keine morphologische Differenzierung von X- und Y-Chromosomen vorliegt.

Über die Verbreitung von Heterochromosomen bei den Ostracoden läßt sich nur sagen, daß sie in der speziellen Form wie bei *Heterocypris* bestimmt keine Gruppenbesonderheit darstellen. Von den beiden außerdem untersuchten Arten *Notodromas monacha* und *Cyclocypris ovum* (SCHMALZ 1912) zeigt erstere 8, letztere 6 typische Stäbchentetraden. Verschiedenzahligkeit beider Geschlechter besteht also nicht. Lediglich in dem verschiedenen prophasischen Verhalten eines Geminus, der sich später als die übrigen verkürzt, könnte man bei *Cyclocypris* auf ein Geschlechtschromosomenpaar schließen. Jedoch ließ sich bei *Heterocypris* ein solches Sonderverhalten der Geschlechtschromosomen nicht eindeutig beobachten. Für die Frage nach der Evolution der Geschlechtschromosomen innerhalb der Ostracoden dürfte die Untersuchung weiterer Arten der *Cypris*-Gruppe lohnend sein.

Heterocypris weist zusammen mit einigen Insekten und Ascariden die Erscheinung eines multiplen Heterochromosomenmechanismus auf (vgl. die Zusammenstellung bei SCHRADER 1928; ferner DARLINGTON 1939, SLACK 1939).

¹ Die Tatsache, daß das Berliner und das Partenkirchener Material gleichartig sind, macht die Erklärung, in Freiburg existiere eine Lokalrasse mit anderer Chromosomenzahl, sehr unwahrscheinlich. Vermutlich sind die älteren Zählungen wegen der noch unentwickelten Methoden unrichtig, wie sich das auch für die Daphniden herausgestellt hat (vgl. MORTIMER 1936).

Bei *Heterocypris* hat das ♂ 15, das ♀ 20 Chromosomen. Diese Zahlen und die besonderen Paarungsverhältnisse lassen zwei Deutungen zu. 1. Die Trägertetrade stellt ein X_1 -Y-Paar dar, an dessen X_1 -Partner sich terminal eine X_{2-6} -Gruppe anheftet. 2. Es handelt sich um eine X_{1-5} -Gruppe, die einer Autosomentetrade terminal angeheftet wird. Eine direkte Entscheidung zwischen diesen Alternativen war nicht zu fällen. Jede dieser Möglichkeiten schließt eine weitere Annahme in sich ein: Nach der 1. sind die beiden Tetradenpartner, an die die 5er Gruppe angeheftet wird, im proximalen Ende verschieden und die 5 kleinen Chromosomen haben ein Paarungsvermögen nur mit dem einen Ende. Nach der 2. sind die 5 kleinen Chromosomen untereinander so vereinigt, daß sie wie eine Einheit reagieren, so daß der Zufall entscheidet, welchem der strukturell gleichen Enden der Trägertetrade sie sich ansetzen. Die erste Annahme hat bei unseren heutigen Vorstellungen die größere Wahrscheinlichkeit für sich. Die Region des X_1 -Chromosomen, an die sich die kleinen Chromosomen anheften, wäre dann dem Differentialsegment (vgl. DARLINGTON 1937) gleichzusetzen. Doch ist hierbei hervorzuheben, daß es sich auch dann nicht um einen normalen Paarungsmodus handeln kann; denn es treten in der Meiose mehr als 2 homologe Abschnitte in Kontakt und behalten diesen die ganze 1. Reifeteilung hindurch bei, während sie bei Vorliegen normaler Paarungsverhältnisse sich in der Anaphase I trennen sollten. Die Tatsache des unmittelbaren Kontaktes der terminalen Gruppe mit der Trägerdyade läßt es unnötig erscheinen, irgendwelche den Spindelansätzen (Centromeren) zuzuschreibenden Kräfte für die besondere Reduktionsform verantwortlich zu machen, wie es DARLINGTON (1939) bei *Cimex* für notwendig hält. Für *Heterocypris* und den vielleicht ähnlich gelagerten Fall von *Blaps* (NONIDÉZ 1920) ist zu erwägen, ob die Paarungsursache der Chromosomengruppe in der Heterochromatinnatur der Paarungsabschnitte liegt; die Paarung würde dann auf einer über die Teilungsstadien erhalten bleibenden Art von Sammelchromozentrum beruhen. Daß heterochromatische Abschnitte bei *Heterocypris* vorkommen, zeigen die wachsenden generativen und somatischen Zellen. Die ungünstigen cytologischen Verhältnisse von *Heterocypris* machen eine eingehende und auch experimentell begründete Untersuchung jedoch unmöglich.

2. Die Beziehung

zwischen bisexualer und parthenogenetischer Fortpflanzung.

WOHLGEMUTH'S Annahme, daß die beiden Fortpflanzungsarten sich in einem langfristigen, nicht jahreszeitlich gesteuerten Generationswechsel verknüpfen, ist nach dem Bisherigen nur experimentell zu entscheiden. Die Beobachtungen, die bei der mehrjährigen Kultur von *Heterocypris* gemacht worden sind, sprechen alle gegen diese Annahme. Die parthenogenetischen Stämme wurden über lange Zeit gehalten: Der Dahlemer

Stamm von 1932—1940, der Helgoländer von 1934—1940 und der Partenkirchener von 1935—1940. Während der ganzen Kulturdauer, bei der jedes Jahr 6—7 Generationen entspricht (die genaue Dauer wurde nur für $1\frac{1}{2}$ Jahre geprüft), hat sich nie ein Anzeichen von bisexualer Vermehrung ergeben, obwohl die von WOHLGEMUTH als auslösend betrachteten ungünstigen Lebensbedingungen ungewollt (während längerer Abwesenheit) vorgelegen haben.

Den Fortpflanzungswechsel von Parthenogenese zu Bisexualität hat WOHLGEMUTH auch nur aus Freilandbeobachtungen (die zweifelhaft sind, vgl. WINKLER 1920) angenommen. Für den umgekehrten Wechsel macht er dagegen den Eintritt günstiger Umweltbedingungen verantwortlich und glaubt ihn im Experiment bewiesen zu haben. Die von mir gezüchtete bisexuelle Form erwies sich, obwohl sie ungleich viel schwieriger in Kultur zu halten war, ebenfalls als konstant. Ebenso zeigten die Freilandbeobachtungen an der Population von Wackerow in allen Jahren ihres Bestandes nach Beobachtungen von Geheimrat MÜLLER und eigenen Fängen zu verschiedenen Jahreszeiten von 1933 bis 1935 die dauernde Bisexualität. Diese Beobachtungen können WINKLERs Auffassung, daß es zwei Fortpflanzungsrassen gibt, eine konstant-bisexuelle und eine konstant-parthenogenetische, also nur unterstützen. G. W. MÜLLER (1927) nimmt wegen des Vorhandenseins von nicht näher genannten Bauunterschieden zwischen beiden Formen sogar eine noch weitere Trennung in selbständige Arten vor. Die Möglichkeit, daß WOHLGEMUTHs böhmische Stämme ein Sonderverhalten zeigen, und allein einen Generationswechsel aufweisen, ist zu unwahrscheinlich, um ernstlich erwogen zu werden.

Von anderen Fällen geographischer Parthenogenese (vgl. VANDEL 1931) unterscheidet sich *Heterocypris* durch die Tatsache, daß beide Fortpflanzungsrassen diploid sind, wie sowohl Anzahl als auch Morphologie der Chromosomen anzeigen. VANDEL (1937) hat auf Grund der bisherigen Chromosomenzählungen das Vorkommen von Polyploidie bei Ostracoden angenommen. Beweis ist ihm, daß die diploiden Zahlen 12, 16 und 24 betragen: "the parthenogenetic female of *Cypris fuscata* has 24 chromosomes (Schleip, 1909). This is, then (von mir hervorgehoben; B.) a tetraploid form in comparison with *Cyprinotus incongruens* and *Cypris reptans*, and triploid in comparison with *Notodromas monacha*". Die hier mitgeteilte Zahl 20 macht VANDELs Annahme noch zweifelhafter als seine Ableitungen schon sind. Allerdings hat er diese Zahl in mißverständener Weise einzureihen versucht und den bisexuellen Weibchen die wahrscheinliche Zahl $2n = 12$ zugeschrieben. Wenn er dieses auch nicht begründet, so könnte in Analogie zu anderen Fällen komplexer Geschlechtschromosomenmechanismen doch versucht werden, die 5er Gruppe der Männchen als pentaploide X-Gruppe anzusehen, deren Einzelelemente mindestens ihrem Ursprung nach homolog sind; die Ausgangszahl wäre dann $5 + X = 6$.

Gegen eine derartige Homologie spricht aber die regelmäßige Tetradenbildung in bisexualen Weibchen. Eine auch nur teilweise Homologie müßte zu Paarungskonkurrenz und damit -störung führen, die mindestens häufig das Auftreten von Univalenten nach sich ziehen würden. Das wurde aber, wie angeführt, nur in einem Fall gesehen. Mit dem Urteil über mögliche Polyploidie bei den Ostracoden ist also wenigstens noch zu warten.

Die Tatsache, daß der Chromosomenbestand der beiden Fortpflanzungsrasen, so weit es die Beobachtung nachweisen läßt, weitgehend gleich ist (vgl. S. 632), bedarf besonderer Betonung. Es wäre zu erwarten, daß im Gegensatz zu der bisexualen in der diploid-parthenogenetischen Rasse Translokationsvorgänge ungehindert vor sich gehen könnten. Diese sollten zu einer allmählichen Angleichung der Längenunterschiede der Chromosomen führen. Daß das nicht der Fall ist, könnte für den verhältnismäßig jungen Ursprung der Parthenogenese sprechen, doch könnten andererseits auch chromosomenmechanische Ursachen einen solchen Vorgang hier verhindert oder erschwert haben. Für die Lösung dieser Frage ist *Heterocypris* nicht geeignet, doch bieten die parthenogenetischen Dipteren hierzu wohl eine Möglichkeit.

Zusammenfassung.

1. *Heterocypris incongruens* weist in der bisexualen Form im ♀ diploid 20, im ♂ diploid 15 Chromosomen auf.

In der Oogenese werden 10 Tetraden gebildet, die normal reduziert werden.

In der Spermatogenese treten 5 Chromosomenkomplexe auf, von denen 4 normale Tetraden sind und einer eine Tetrade mit angehefteter Gruppe aus 5 Chromosomen darstellt. Diese Gruppe wird präreduziert. Vor der 2. Reifeteilung lösen sich ihre 5 Elemente von der Trägertetrade und voneinander, so daß 2 Arten von Spermatiden entstehen, eine mit 10, eine mit 5 Chromosomen.

Es ist wahrscheinlich, daß der haploide Bestand der bisexualen Form die Formel $A_{1-4} + X_{1-5}$ bzw. $A_{1-4} + Y$ hat.

2. Die parthenogenetische Form besitzt im Gegensatz zu älteren Angaben 20 Chromosomen von weitgehend gleicher Gestalt wie die der bisexualen Form, ist also diploid. Es kommt nur eine Äquationsteilung vor.

3. Die beiden Formen behielten in der Kultur die ihnen eigene Fortpflanzungsweise bei. Sie sind als selbständige Rassen anzusehen.

Schriftenverzeichnis.

- Bauer, H.: Geschlechtschromosomen bei Ostracoden. Naturwiss. 22, 543 (1934). — Darlington, D. C.: Recent advances in cytology. 2nd ed. London 1937. —

The genetical and mechanical properties of the sex chromosomes. V. *Cimex* and the Heteroptera. J. Genet. **33**, 101—137 (1940). — Delpine, L.: Sulle divisioni meiotiche in *Telphusa fluviatilis* Latr. Atti Accad. naz. Lincei VI. s. **19**, 174—177 (1934). — Leopoldsdorfer, F.: Geschlechtsverhältnisse und Heterochromosomen bei *Pandalus borealis* Kröjer (Decapoda). Z. Zool. **145** (1934). — Mortimer, C. H.: Experimentelle und cytologische Untersuchungen über den Generationswechsel der Cladoceren. Zool. Jb. (Physiol.) **56**, 323—388 (1936). — Müller, W.: Beitrag zur Kenntnis der Fortpflanzung und der Geschlechtsverhältnisse der Ostracoden nebst Beschreibung einer neuen Species der Gattung *Cypris*. Z. ges. Naturwiss. **53**, 220—246 (1880). — Die Ostracoden des Golfes von Neapel und der angrenzenden Meeresabschnitte. Fauna und Flora des Golfes von Neapel. 21. Monogr. Berlin 1894. — Ostracoda. Handbuch der Zoologie, Bd. 3, 1. Hälfte, S. 399—434. Berlin 1927. — Müller-Calé, C.: Über die Entwicklung von *Cypris incongruens*. Zool. Jb. (Anatomie) **36**, 113—170 (1913). — Niliyama, H.: The problem of male heterogamety in the decapod Crustacea, with special reference to the sex-chromosomes in *Plagusia dentipes* de Haan and *Eriocheir japonicus* de Haan. J. Sci. Hokkaido Imp. Univ.-Ser. VI, 5, No. 4 (1937). — The X-Y-chromosomes of the shore-crab, *Hemigrapsus sanguineus* (de Haan). Jap. J. of Genet. **14**, 33—38 (1938). — Nonidez, J. F.: The meiotic phenomena in the spermatogenesis of *Blaps*, with special reference to the X-complex. J. of Morphol. **34**, 60—117 (1920). — Schleip, W.: Vergleichende Untersuchung der Eireifung bei parthenogenetisch und bei geschlechtlich sich fortpflanzenden Ostracoden. Arch. Zellforsch. **2**, 300—431 (1909). — Schmalz, J.: Zur Kenntnis der Spermatogenese der Ostracoden. Arch. Zellforsch. **8**, 407—441 (1912). — Schrader, F.: The sex chromosomes. Berlin 1928. — Slack, H. D.: Structural hybridity in *Cimex* L. Chromosoma **1**, 104—118 (1939). — Thienemann, A.: Alpine Chironomiden. (Ergebnisse von Untersuchungen in der Gegend von Garmisch-Partenkirchen, Oberbayern.) Arch. f. Hydrobiol. **30**, 167—262 (1936). — Vandel, A.: La parthénogenèse. Paris 1931. — Chromosome number, polyploidy, and sex in the animal kingdom. Proc. Zool. Soc. London, Ser. A. **107**, 519—542 (1937). — Weismann, A.: Parthenogenese bei den Ostracoden. Zool. Anz. **3**, 82—84 (1880). — Winkler, H.: Verbreitung und Ursache der Parthenogenese im Pflanzen- und Tierreiche. Jena 1920. — Wohlgemuth, R.: Beobachtungen und Untersuchungen über die Biologie der Süßwasserostracoden; ihr Vorkommen in Sachsen und Böhmen, ihre Lebensweise und ihre Fortpflanzung. Rev. Hydrobiol. Biol. Suppl. 6. Ser. **6**, 23—72 (1914). — Woltereck, R.: Zur Bildung und Entwicklung des Ostrakoden-Eies. Kerngeschichtliche und biologische Studien an parthenogenetischen Cypriden. Z. Zool. **64**, 596—623 (1898).

Berichtigungen.

- S. 337 Zeile 2 v. u. lies Meiose statt Mitose.
 S. 340 Zeile 4 v. u. lies $1 \cdot 10^{-9}$ statt $1 \cdot 10^{-9}$.
 S. 341 Zeile 3 lies stehen statt steht.
 S. 342 Zeile 5 lies da statt daß.
 S. 348 Zeile 3 v. u. lies 1,5 m statt 1,5.
 S. 351 Mitte lies $\frac{\Sigma n_i}{\Sigma N_i \cdot D_i^1}$ statt $\frac{\Sigma n_i}{\Sigma n_i \cdot D_i^1}$.
 S. 352 Abbildungserklärung Zeile 3 lies eingezeichnet statt eingerechnet.
 S. 358 Zeile 9 und 16 lies Plum statt Pl.
 S. 358 Zeile 14 v. u. lies Abschnitte statt Unterabschnitte.
 S. 362 Tabelle 11, 1. Reihe, 3. Spalte lies 25,6 statt 28,6.
 S. 378 Zeile 12 lies 3 bzw. 5 Fälle statt 3 Fälle.
 S. 378 Zeile 15 lies 20 statt 22.
 S. 379 Tabelle 24, 1. Reihe lies 6 statt 7.
 S. 382 Zeile 8 v. u. lies enden statt stellen.
 S. 388 Zeile 4 v. u. lies werden statt wird.
 S. 493 Zeile 6 v. u. lies Abb. 13 statt Abb. 11.
 S. 497 Abbildungserklärung Zeile 10 lies Vc statt IIc.
 S. 508 Abbildungserklärung Zeile 6 lies VIe statt VII.
 S. 508 Abbildungserklärung Zeile 7 lies VII statt VI m.
 S. 508 Abbildungserklärung Zeile 8 lies VIe statt VII.
 S. 509 Zeile 2 lies Abb. 12 statt Abb. 14.
 S. 510 Zeile 24 lies Va statt VIa.
 S. 510 Zeile 28 lies vgl. z. B. die Sat-Zonen der Abb. 4e und des Photos VII k
 statt vgl. z. B. am deutlichsten die Abb.
 S. 512 Zeile 8 lies VI c—f statt VI c—g.

Register.

Zusammengestellt von Dr. WITTA LEBCHER.

(Fettdruck der Seitensahlen bei Autorenamen weist auf die Originalarbeiten hin.)

- Abstoßungshypothese (DARLINGTON) 63.
Acarina s. *Pediculopsis*.
 Achromatin-Hypothese (REUTER) 52.
 ACKERMANN, D. 565.
Aconitum 274.
 — *chinensis* 493, 495.
 — *napellus* 493, 495.
Actinophrys, Berechnung der Chromosomenstauung und -kontraktion 24, 27.
 ADDICOTT, F. 34.
Adoxa moschatellina, Spezialsegmente temperaturbedingt 554—561.
 Äquatorialkörper bei *Pediculopsis* 67 bis 71, 85—88, 92, 94.
 AFIFY, A. 493.
Agapanthus 226.
 — *umbellatus* 495.
Aggregata 97.
 —, Berechnung der Chromosomenstauung und -kontraktion 24, 26, 29.
 ALEXANDROW, W. 157, 174.
 ALLEN, C. E. 130.
Allium, 189, 493, 498, 499, 505.
 — *angulosum* 498.
 — *carinatum* 498.
 — *cepa* 157, 158.
 — *nudans* 498.
 — *pulchellum* 498.
 — *Schoenoprasum* 498.
Aloe arborescens 492.
 — *mitriformis*, var. *Commelinii*, Chromosomenstruktur 487, 499, 504.
Aloinae 491, 492, 500.
 ALTENBURG, E. 344, 610.
 ALTMANN, R. 562, 597.
Alydus 227.
Amaryllis Belladonna, Chromosomenmechanik 178, 188.
 AMERLING, C. 53.
 Amitose bei *Gerris* 10, 21.
Amoeba 47.
Amphibia s. *Amphiuma*.
Amphiuma, Kinetochoren-Bau 231 bis 234.
 — *tridactylum* 522.
Ancyraacanthus cystidicola 336.
Anemone 98, 560.
Angelica sylvestris 493, 495.
Aranea, Berechnung der Chromosomenstauung und -kontraktion 24, 25.
Araneida s. *Aranea*.
Arbacia 41.
Arenicola, Eizellkern, chem. Aufbau (Absorptionsanalyse) 590, 591, 594.
Argas 52, 98.
Armillifer armillatus 55, 57, 58, 61, 63, 65, 72—75, 94.
Arum maculatum 274.
Ascaris, 41, 45, 46, 49, 392, 458, 462, 463.
 — *lumbricoides* 462.
 — *megalocephala* 462.
Ascomyces 227.
 ASTBURY, W. T. 148, 529, 606, 617.
 Asynapsis, partielle 307.
Atax 74.
Avena 47.
 AVERY, P. 495.
Aves s. *Gallus*.
 Axolotl 157, 163, 164, 172, 173, 174.
 BAAS-BECKING, G. M. 46.
 BANG, J. 565.
 BANK, O. 157, 158, 165, 173, 175.
 BARBER, H. N. 28, 33—50 (Bewegungsgeschwindigkeit der Chromosomen).
 BARIGOZZI, C. 526.
Basidiobolus lacertae 95.
 Bastardierung und Sat-Differenzierung 498.
 BAUER, HANS 17, 62, 63, 67, 94, 95, 158, 161, 225, 277, 311, 314, 315, 319, 322, 330, 331, 336, 342, 343—390 (Röntgenauflösung von Chromosomenmutationen bei *Drosophila*) 393, 462, 463, 512, 513, 526, 527, 528, 583, 586, 587, 620—637 (Chromosomen bei *Heterocypris*).
Bdella 74.
 BEADLE G. W. 303.
 BEAL, J. M. 487.
 BEAMS, H. W. 462.
 BECKER, S. 566.
 BECKER, W. A. 37, 174, 175.
 BEDICHEK, S. 365.

- Befruchtung bei *Heterocypris* 630.
 — bei *Pediculus* 71, 73—77.
- BÉLÉAR, KARL 24, 26, 28, 33, 34, 38, 39, 46, 94, 148, 158, 159, 163, 168, 170, 174, 234, 255, 507, 510.
- BELGOVSKY, M. 311, 330, 357.
- BELL, FL. 148, 606, 617.
- Bellevia romana*, Berechnung der Chromosomenstauung und -kontraktion 24, 25.
- BELLING, J. 24.
- BEMMELSEN, VAN J. M. 171.
- BERNAL, J. D. 385.
- BERGER, CH. A. 17, 19, 20, 276, 282.
- BERGMANN, M. 599.
- BERRY, R. O. 461.
- Bewegungsgeschwindigkeit der Chromosomen 33—50.
- Biscutella* 337.
- BLAKESLEE, A. F. 47.
- Blaps* 634.
- BOCHE, R. D. 388.
- BONNET, A. 74.
- BONNER, T. 34.
- BONNEVILLE, K. 462.
- BOOST, CH. 300—309 (B. u. LUDWIG, mehrfache Chiasmen und gerichtete Chiasmausbildung).
- Bothrioplane semperi*, Chromosomenfeinbau 542—548.
- , Chromosomenformwechsel 533—542, 548.
- , Diogonie, parthenogenetische 531 bis 553.
- , Spermatogenese 548, 549.
- BOVERI, TH. 260—263, 392, 458, 462.
- BOWEN, R. H. 236.
- BRADBURY, O. C. 80.
- BRANDT 607.
- BRESSLAU, E. 199, 228, 531, 533.
- BRIDGES, C. B. 23, 119, 250, 303, 306, 347, 358, 360, 368, 369, 589.
- Bromus* 500.
- BROWNE, E. N. 117.
- Bruchhypothese s. Chromosomenmutationen.
- Bruchkoeffizient s. Chromosomenmutationen.
- Brücken s. Chromosomenbrücken.
- BUCCIANTE, L. 39—45, 49, 50.
- BUCHHOLZ, J. T. 47.
- BUCK, G. C. 589.
- BUNGENBERG DE JONG, H. G. 171, 172.
- CARLSON J. G. 236, 385.
- Carpocoris fuscispina*, Heterochromatin der Geschlechtschromosomen 216, 217.
- *melanocerus*, Heterochromatin der Geschlechtschromosomen 216.
- CASPERSSON, T. 30, 147—156 (Desoxyribosenukleinsäure und Zellteilung) 172, 281, 513, 526, 529, 562—604 (Eiweißverteilung in den Strukturen des Zellkerns), 605—619 (Nukleinsäureketten und Genvermehrung.)
- CASTELL, D. B. 74.
- CATCHESIDE, D. G. 311, 344, 345, 349, 354, 356, 384.
- Centriol, Kinetochoren, Beziehung zu 236, 237.
- , Spindelbildung, Rolle bei 253, 257, 261.
- Centromeren (s. a. Kinetochoren).
- , Bewegungsgeschwindigkeit 35, 36.
- , Duplikation 298.
- bei Endomitose 15.
- , Formwechsel 522, 523.
- , Fragmentation 522—524.
- bei *Heterocypris* 622, 624, 625.
- in Pollenkornmitose 521—524.
- bei *Secale cereale* 294—296.
- , Teilung, unregelmäßige 181—186.
- , Thymonukleinsäurereaktion 521.
- , Translokation 295.
- Centrosomen bei Endomitose 16.
- CHAMBERS, R. 38, 158.
- CHARLES, D. R. 301.
- Chiasmata, Chromosomenbewegung und 39—41.
- , Crossingover und 194.
- bei *Cimex* 116.
- Häufigkeit 119—129, 191—196.
- Genabhängigkeit der 120, 126, 128.
- Konkurrenz 119—129.
- bei *Pediculus* 61, 62, 64, 97, 98.
- , Spezialsegment und 529.
- bei T-Chromosomen 288.
- Terminalisation 194.
- Chimären bei *Sphaerocarpus* 142.
- Chironomus* 582, 583, 610, 616.
- , Feinbau der Riesenchromosomen 526 bis 530.
- CHRISTOPHERS, S. R. 74.
- Chromatiden-Kontraktion und Nukleinsäuresynthese 155.
- Trennung ohne Spindelbildung 227.

- Chromatiden-Trennung, vorzeitig durch äußere Faktoren 540.
- Chromatinelimination bei *Oligarces* 392, 403, 459, 462, 463 (s. a. Elaboration).
- Chromatinring bei Dytisciden 462.
- Chromatophilie, doppelte des Kernes (HEIDENHAIN) 596, 597.
- Chromomeren, Träger der Nukleinsäure 150.
- Chromonema-Kontraktion 512.
- in Sat-Zone 509.
- -Spaltung 510—515.
- , Wurzelspitzenmitose 486, 487, 506 bis 515.
- Chromosomen-Anordnung im Spermienkern 336—342, 368, 378, 379, 381, 382, 387.
- -Elimination 402—467.
- , heteromorphes Paar 501.
- , Lebendbeobachtung bei *Bothrioplana* 542, 543.
- , mehrwertige 474, 480.
- und Systematik (*Heteroptera*) 227, 228.
- , telomitische (*Bothrioplana*) 534, 544, 547.
- , überzählige (*Cimez*) 104.
- , Vakuolisierung 13.
- -Vermehrung und Kernwachstum 265—275.
- -Vitalfärbung 167, 168, 171.
- -Wachstum 271.
- Chromosomenbewegung 16.
- , Chiasmata und 39—41.
- , Geschwindigkeit 33—50.
- , Temperaturabhängigkeit der 41—45, 49.
- , Trennungsbewegung 268.
- , Viskosität und 45, 46.
- , Zugfasertheorie der 253—264.
- Chromosomenbrüche (s. a. Chromosomenmutationen), Bruchenden, freie 385.
- , Fragmentation (*Bothrioplana*) 535.
- , Fragmente 294, 297, 298, 439, 440, 445—449.
- im Heterochromatin 358, 359, 365, 368.
- und Kinetochoren 236, 237.
- Chromosomenbrücken 385.
- und Fragmente 294, 297, 298.
- bei *Secale* 294, 297, 298.
- und Spezialsegmente 559, 560.
- Chromosomenzyklus von *Bothrioplana* 531—553.
- *Heterocypris* 620—637.
- *Oligarces* (Pädogenese) 391—473.
- *Pediculopsis* 51—103.
- Chromosomengröße, Längenmessung 23 bis 26.
- , Längenvariabilität 178.
- in der Meiose 270.
- , Volumen und Polyploidie 474—485.
- Chromosomenmechanik 178—190.
- , Kontraktion bei Endomitose 15.
- , —, Messung der 23—32.
- , Querteilung, scheinbare (*Bothrioplana*) 537, 546.
- , Spiralisierung s. Spiralisierung.
- , Stauung, Messung der 23—32.
- , Teilung ohne Kernteilung 1—22.
- Chromosomenmutationen, bizentrische Chromatiden 355.
- , Brüche (s. a. Chromosomenbrüche).
- , Bruchhäufigkeit 343, 360—362, 376.
- , Bruchhypothese 315, 319, 332, 344, 356, 358, 384, 385.
- , Bruchkoeffizient 360—365.
- , Bruchrekombination 343, 368—384.
- , Bruchverteilung 343, 358—368.
- , Brücken s. Chromosomenbrücken.
- , Dosisabhängigkeit 311, 315, 331, 344 bis 358.
- und Heterochromatin 143.
- , Knotenhypothese 384.
- , Kontakthypothese 315, 319, 344, 356, 384.
- , Kontaktpunkt 344, 349—356, 368 bis 375, 382—384.
- , Mechanismus strahleninduzierter 317—335, 344.
- , Neuordnungszeit 332.
- und Punktmutationen 310—316, 329, 333, 334.
- , Rekombinationsbereich 379, 382 bis 387.
- , Rekombination der Fragmente 330, 331, 334.
- , Röntgenauslösung 343—390.
- bei *Sphaerocarpus* 130—146.
- , spontane 333.
- , Strahlenempfindlichkeit 327.
- , X-Deficiency und Geschlechtsumwandlung 130—146.
- , X-C-Methode 331.

- Chromosomenstruktur, Aufbau, chemischer (Absorptionsanalyse) 589 bis 596.
- , achromatische Einschnürung 64, 70, 96.
 - bei *Bothrioplana* 542—548.
 - , chemische Veränderungen bei Formwechsel 592—594.
 - , chromatische Achse 542—547.
 - , Doppelbrechung 604—614.
 - , Hülle (*Heterocypris*) 626.
 - , Matrix 543, 547.
 - , Nukleinsäuregehalt und Entwicklung 147—156.
 - bei *Pediculopsis* 95—99.
 - , Scheidenbau 542, 544, 545.
 - , Spezialsegmente 554—561.
 - , Vakuolisierung 545, 546.
 - in Wurzelspitzenmitose 486—520.
- Chromosomenzahl von *Bothrioplana semperi* 534, 535.
- *Dicranomyia trinitata* 337.
 - *Encephalartus Allensteini* 487.
 - *Eurydema dominulus* 210.
 - — *oleraceum* 213.
 - — *ventrale* 214.
 - *Heterocypris incongruens* 631, 632.
 - Heteropteren, allgemeine Beziehungen 228.
 - *Lygaeus saxatilis* 199.
 - *Lygus innotatus* 219.
 - — *pratensis* 218.
 - *Macrotylus quadrilineatus* 220.
 - *Oligurces paradoxus* 400, 401, 416 bis 418.
 - *Palomena prasina* 206.
 - *Pediculopsis graminum* 53.
 - *Pentatomidae* 216.
 - *Picromerus bidens* 214.
 - *Sauromatum guttatum* 271.
 - *Sigara carinata* 221.
 - *Syromastes marginatus* 223.
- Chromozentren bei *Adoxa* 560.
- *Epidendrum* 483, 484.
 - *Gerris* 3, 4, 7—9, 202.
 - *Heteroptera* 201—206, 208—210, 212, 214—225.
 - *Nitella* 21.
 - *Rhoeo discolor* 476—478.
 - *Sauromatum* 267, 269, 273, 274 (s. a. Sammelchromozentren).
- Chorthippus*, Berechnung der Chromosomenstauung und -kontraktion 24, 30.
- Chorthippus*, chemischer Aufbau der Metaphasechromosomen (Absorptionsanalyse) 589, 590, 592.
- , Thymonukleinsäure und Zellteilung 149.
- Cecidomyiden 463, 464.
- Cerebratulus lacteus* 543.
- , Spindeldoppelbrechung und Zugfasertheorie der Chromosomenbewegung 253, 256—259.
- Cimex*, Spermatogenese 105—118.
- , Struktur-Heterozygotie 104—118.
 - *lectularius*, überzählige Chromosomen 104.
 - *rotundatus*, überzählige Chromosomen 104.
 - , unisexuelle Nachkommenschaften 105.
- Cladophora alpina* 493.
- CLAPARÈDE, E. 74.
- CLEVELAND, L. R. 26.
- Colchicin-Mitose und Endomitose 15, 200, 227.
- COONEN, L. P. 493.
- COOPER, K. W. 51—103 (Kerncytologie von *Pediculopsis graminum*, besonders Karyomerokinese) 276, 463, 589.
- Coriza* 105, 116.
- COULTER 566.
- Crepis* 366.
- Crossingover (s. a. Faktorenaustausch).
- , Chiasmata und 194, 301, 302.
 - -Hypothese s. Chromosomenmutationen, Kontakthypothese.
 - , Relationsspirale und 191.
- CSIK, L. 191—196 (C. u. KOLLER, Relationsspirale und Chiasmahäufigkeit.)
- Curcubita pepo* 493, 495.
- Cucurbitaceae* 493.
- Cumingia* 46.
- Cycadaceae* s. *Dioon*, *Encephalartus*.
- Cyclanthera explosens* 500.
- Cyclocypris ovum* 633.
- Cyprinotus incongruens* 635.
- Cypris fuscata* 635.
- *reptans* 635.
 - *Sydnea* 630.
- Cytoplasma-Viskosität 45, 46.
- DAKIN, H. 564.
- Damaeus* 74.
- DARK, S. O. S. 24.

- DARLINGTON, C. D. 23—32 [D. u. URCOTT, Messung der Chromosomenkontraktion und -stauung (packing)] 35, 37, 63, 81, 97, 116, 119, 120, 128, 178, 179, 180, 181, 191, 226, 233 bis 236, 486, 487, 492, 504—513, 521, 524, 528, 544, 554—557, 559, 588, 633, 634.
- Dasyurus*, Berechnung der Chromosomenstauung und -kontraktion 24.
- Datura* 47.
- DEBAISLEUX, P. 462.
- Deficiencies, Röntgenauslösung 376, 377.
- DELBRÜCK, M. 311, 351.
- Deletionen, Dosisabhängigkeit 312, 313.
- DELPINO, L. 633.
- DEMEREZ, M. 310, 311, 319, 322, 330, 342, 345, 347, 349, 356—358, 365, 369, 377, 378, 384.
- DEMIDOVA, Z. 311.
- DEPDOLLA, PH. 199.
- DERMEN, H. 492.
- Desoxyribosenukleinsäure (s. c. Nukleinsäure und Thyminnukleinsäure).
—, Kolloidchemie 606.
—, Linearstruktur und 608.
—, Zellteilung und 147—156.
- DHERÉ 566.
- Dicentrische Chromatiden bei *Secale cereale* 294, 297, 298.
- E chroismus in UV-Licht, Methode zur Messung der Doppelbrechung von Thyminnukleinsäure 611—614.
- Dicotyledones* s. *Adoza*, *Phlox*, *Vicia*.
- Dicranomyia trinitata* 381.
—, Chromosomenanordnung im Spermienkern 336—342.
- Differentialreaktion und Sat-Differenzierung 504—506.
- Differentialsegment 634.
- Dioogonie, parthenogenetische bei *Bothrioplana semperi* 531—553.
- Dioon spinulosum*, Chromosomenstruktur 487, 489, 502, 503, 507.
- Diplodontus despicatus* 58.
- Diptera* 265, 513 (s. a. *Chironomus*, *Dicranomyia*, *Drosophila*, *Oligarces*).
- Dissosteira carolina* 158.
- DOBZHANSKY, TH. 311.
- Dolycoris baccarum* 2.
— Heterochromatin der Geschlechtschromosomen 216.
- DONCASTER, L. 94.
- Doppelbildungen, symmetrische bei *Bothrioplana* 552.
- DOUTRELIGNE, J. 493, 495, 560.
- Drosophila* 23, 97, 119, 308, 342, 607, 608, 616, 617.
—, Mehrfache Chiasmen und gerichtete Chiasmabildung 300—309.
- Drosophila melanogaster* 249—252, 342, 610, 614.
—, Aufbau, chemischer, der Speicheldrüsenchromosomen (Absorptionsanalyse) 578—589.
—, Endomitose in Eizellen 276 bis 283.
—, Chromosomenmutationen, Mechanismus strahleninduzierter 317—335.
—, —, Röntgenauslösung von 343—390.
—, Punkt- und Chromosomenmutationen, Beziehungen strahleninduzierter 310—316.
- Drosophila pseudoobscura* 303.
—, Mutteralter und Faktorenaustausch im X-Chromosom 238—252.
- Drosophila simulans* 303.
- Drosophila virilis* 303.
- DUBININ, N. P. 315, 319, 384.
- DUBOIS, A. M. 459, 461.
- DUBOSQ, O. 94.
- DUNN, M. 566.
- Duplikationen, Röntgenauslösung 376, 377.
- DURYEE, W. R. 25.
- Dytisciden* 462.
- EBERHARDT, K. 315, 317—335 (Mechanismus strahleninduzierter Chromosomenmutationen bei *Drosophila*). 345, 358, 386.
- Echinodermata* 564 (s. a. *Psammechinus*).
- Echinus microtuberculatus* 260.
- EDLBACHER, S. 564.
- EFROIMSON, W. P. 310.
- EHRSTRÖM, R. 564.
- Eizellen, Endomitose 276—283.
- Eireifung bei *Bothrioplana* 533—542.
— *Heterocypris* 630—633.
— *Pediculopsis* 65—73.
- Eiweißverteilung im Zellkern (Absorptionsanalyse und histochemische Untersuchung) 562—604.
- EKBLOM, T. 149, 151.
- Elaboration 67—73, 77, 83—88, 95 (s. a. Chromatinelimination).

- Elodea* 46, 47.
Encephalartus 498, 507, 509, 510; 512, 515.
 — *Allensteini*, Chromosomenstruktur 487, 489, 490, 491, 498, 501, 502, 505, 513.
 — *horridus*, Chromosomenstruktur 478, 489, 490, 492, 493, 501, 508.
 — *latifrons*, Chromosomenstruktur 487, 489, 490, 501.
Endomitose 198, 200, 201, 206, 207, 227, 255, 265, 273.
 —, Centromerenteilung und 282.
 —, Colchicin-Mitose und 15, 200, 227.
 —, *Drosophila* (Eizellen) 276—283.
 —, — (Speicheldrüsenchromosomen) 588, 589, 617, 618.
 —, *Gerris* 5—21, 198.
 —, Heteropteren 464.
 —, *Lygaeus* 197—206.
 —, Mitose, Vergleich mit 280—282.
 —, Nukleolus und 200.
 ENZMANN, E. V. 386.
Ephedra campylopoda 493.
 — *major* 493.
Ephestia 94, 95.
 EHRUSSI, B. 41.
Epidendrum ciliare, Kernwachstum und Kernbau 474, 481—485.
Eremurus comosus 496.
 — *Kauffmanni* 497.
 — *spectabilis* 493, 495, 497.
 — *zenaidae* 496.
Eriocheir japonicus 633.
Eriostemonas, Chromosomenmechanik 178, 184, 185, 187.
 ERNST, H. 266.
Eurydema dominulus 2.
 —, Heterochromatin der Geschlechtschromosomen, Meiose, somatische Kerne 197, 210—213.
Eurydema oleraceum 2.
 —, Heterochromatin der Geschlechtschromosomen, Meiose, somatische Kerne 197, 213, 214, 228.
Eurydema ventrale, Heterochromatin der Geschlechtschromosomen, Meiose, somatische Kerne 197, 214.
Eurygaster maurus 2.
 —, Heterochromatin der Geschlechtschromosomen 217.
 EWING, H. E. 53, 55.
 Faktorenaustausch (s. a. Crossingover).
 —, Altersabhängigkeit bei *Drosophila* 238—252.
 FARNE 561.
 FAURÉ-FREMIET, E. 45, 46, 49, 50.
 FELIX, K. 563.
 FERAUD, K. 566.
 FERNANDES, A. 488, 492, 493, 500, 502.
 Feulgen-Reaktion als Nachweis für Thyminukleinsäure 150.
 FISCHER, I. 10, 21, 157—177 (Vitale Kernfärbung bei *Stenobothrus*).
 FISHER, R. A. 123, 124, 125, 196.
 FOGG, L. C. 94.
 Follikel-Epithel, polyploide Kerne 4.
 FRANCOTTE, P. 551.
 FREW, P. 236.
 FREY-WYSSLING, A. 172, 173, 254, 256, 529, 530.
Fritillaria, 29, 97, 300, 521, 524.
 — *latifolia* 180.
 — *pudica* 178, 180.
 FROLOWA, S. 463, 500, 588, 589.
 FROST, H. B. 181.
Frullania dilatata 493, 496.
 FRUTON, J. 599.
 FRY, H. J. 38, 41, 94.
 Furchungsmitosen bei: *Oligarces* 396 bis 458.
 — *Pediculopsis* 79—95.
 FYFE, J. L. 182.
 GABRITSCHESKY, E. 467.
 GAIRDNER, A. E. 188.
Gallus domesticus 565.
 —, Berechnung der Chromosomenstauung und -kontraktion 24.
 —, Bewegungsgeschwindigkeit der Chromosomen 40, 42—44, 49.
 —, Fibroblastenmitose 38, 39.
Gallonia candidans 500.
Gamasus 52, 72, 98.
 Ganglienkerne, polyploide, Entwicklung bei Heteropteren 18, 203, 204, 212, 213, 215, 223, 226.
Gasteria 492.
 —, Berechnung des Stauungsfaktors 27.
 GATES, R. R. 488, 500.
 GAYRLOWA, A. A. 311, 315, 319, 325, 329, 330, 345, 357, 358.
 GAY, E. H. 382.
 GEITLER, L. 1—22 (Polyploide Soma-kerne der Heteropteren), 27, 94, 182,

- 197—229 (Heterochromatin der Geschlechtschromosomen bei Heteropteren) 255, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 273, 276, 282, 464, 474—485 (Kernwachstum und Kernbau bei zwei Blütenpflanzen), 486, 488, 492, 493, 500, 502, 506, 507, 510, 512, 514, 528, 542, 554—561 (Temperaturbedingte Ausbildung von Spezialsegmenten an Chromosomenenden).
- Generationswechsel bei *Oligarces* 392.
— Ostracoden? 620—637.
- GENTCHEFF, G. 273.
- Genvermehrung und Nukleinsäure 156, 605—619.
- Gerris lacustris* 2, 200, 224.
— *lateralis*, polyploide Somakerne 198, 200, 206, 224—227, 276, 282.
- GERSCH, M. 174.
- Geschlechtschromosomen bei Crustaceen, Allgemeines 633.
— bei *Eucephalartus* 490.
—, Entstehung aus Autosomen 117.
—, Genkontrolle 116.
—, Heterochromatin der 197—229.
—, multiple bei *Heterocypris* 620, 624, 625, 628, 633, 635.
—, Sterilität durch Y-Chromosomenverlust 144.
—, X-O-Typus bei *Gerris* 2.
- Geschlechtsumwandlung durch X-Chromosomen-Deficiency 130—146.
- Geschlechtsverhältnis bei *Cimex* 105.
- GIARDINA, A. 462.
- GILSON, G. 73.
- GOODSPEED, H. 493.
- Gomphocerus maculatus*, Thymonukleinsäure und Zellteilung 149, 150, 151, 154, 156.
- Gossypia* 462.
- GOTO, M. 564.
- GOTTSCHIEWSKI, G. 238—252 (Mutteralter und Faktorenaustausch bei *Drosophila*), 303.
- GOULDEN, G. H. 195.
- GOWEN, J. W. 382.
- GRAFL, I. 265—275 (Kernwachstum durch Chromosomenvermehrung), 474, 480.
- Gramineae 186, 187.
- Grantia* 94.
- Graphosoma italicum* 2.
- , Heterochromatin der Geschlechtschromosomen 217.
- GRAUBARD, M. A. 303, 304, 305, 306.
- GRAY, J. 35, 47, 48.
- Grenzstrahlen, Mutationsauslösung 323, 325, 326, 328, 330.
- GRIFFEN, A. B. 589.
- GROSS, J. 226.
—, R. 597, 598, 599.
- GROSSFELD, H. 162, 175.
- GRÜNEBERG, H. 303.
- GÜNTHER, Th. 462.
- GUSTAVSSON, A. 273.
- GUTTENBERG, H. v. 560.
- HAFFNER, K. v. 55, 57—59, 61, 63, 65, 72—75, 94.
- HAGA, T. 493, 503.
- Halacarus basteri* 58.
- Halarachne otariae* 58, 77.
- Halbspindelfasern 256.
- Haliclystis* 94.
- HALLE, F. 529.
- HAMMARSTEN, E. 148, 578, 596, 598, 606, 608, 610, 617.
—, G. 578, 596.
—, H. 598.
- HANCE, R. T. 534.
- Haplovortex* 552.
- HARVEY, E. B. 104.
- HASEGAWA, N. 295.
- HEGNER, R. W. 421, 451, 459.
- HEIDENHAIN, M. 596, 597.
- HEILBRUNN, L. V. 38, 46.
- HEITZ, E. 85, 95, 135, 198, 225, 368, 487 bis 489, 492, 493, 495, 499, 500, 506, 510, 514, 544, 587.
- HELLER, C. 74.
- Hemigrapsus sanguineus* 633.
- HENKING, H. 74.
- Hepaticae* s. *Sphaerocarpus*.
- HEPPELL 178.
- HEPTNER, M. 311.
- HERTWIG, G. 20, 277, 474.
- HERWERDEN, M. A. VAN 158, 600.
- Heterochromasie, äquilocale 368.
—, Chromomerenanzahl und 225, 226.
—, Hypothese über 225.
—, somatische 200—203, 216, 220, 224, 226.
- Heterochromatin, Aufbau, chemischer (Absorptionsanalyse) 578—582.
— -Brüche 358, 359, 365, 368.
—, Chiasmata und 252.
— und Eiweißstoffwechsel 595, 596.

- Heterochromatin, in Geschlechtschromosomen (*Heteroptera*) 197—229.
 — bei *Heterocypris* 634.
 —, Nukleolustoffwechsel und 586, 587, 594, 595.
 — -Produkte in der Telophase 594.
 —, bei *Sphaerocarpus* 133—136, 143.
 —, Zerstäubungsstadium und 267.
Heterocypris incongruens, Chromosomenverhältnisse einer bisexualen und einer parthenogenetischen Rasse 620—637.
 Heteromorphes Chromosomenpaar bei *Secale cereale* 289, 290.
Heteroptera 265, 273, 464, 465. (s. a. *Carpocoris*, *Cimex*, *Dolycoris*, *Eurydema*, *Eurygaster*, *Gerris*, *Graphosoma*, *Lygaeus*, *Lygus*, *Macrotylus*, *Myrmus*, *Palomena*, *Pentatoma*, *Picromerus*, *Sigara*, *Syromastes*).
 —, Endomitose, polyploide Somakerne 1—22.
 —, Heterochromatin der Geschlechtschromosomen 197—229.
 Heuschrecke, Ultraviolett-Absorptionsmessung am Zellkern 148, 150, 614, 615.
 HEYMONS, R. 55, 74.
 Hodenhülle, polyploide Kerne, Entwicklung bei Heteropteren 4, 209, 212.
 Hodensepten, polyploide Kerne, Entwicklung bei Heteropteren 4—6, 9, 200, 201, 204, 205, 209, 210, 212, 214 bis 222, 226.
 HODGKISS, H. E. 53.
 HOFFMANN, I. 130—146 (KNAPP und H., Geschlechtsumwandlung bei *Sphaerocarpus*).
 HOFSTEN, N. v. 548.
 Hohlspindel 179, 180, 182, 183.
 HOLIDAY, E. 566, 572.
 HOLLINGSHEAD, L. 493.
Homo sapiens, Fibroblastenmitose 38.
 HUETTNER, A. F. 459.
 HUGHES-SCHRADER, S. 77, 462.
 HUISKAMP, W. 565.
 HUMPHREY, L. M. 27.
 HUSKINS, C. L. 492.
 HUSTED, L. 192.
Hyacinthus orientalis, Chromosomenmechanik 178, 180.
Iberis 337.
Impatiens Balsamina 493, 495.
Impatiens parviflora 493, 495.
 — *petersiana* 495.
 Innere Teilung, Kernwachstum durch 265, 273.
 Interferenz 128, 245—247, 251, 252.
 —, Chiasmabildung und 301, 304, 305, 308.
 Inversionen, Brücken 294, 297, 298, 385, 559, 560.
 —, Dosisabhängigkeit 312, 314
 —, Röntgenauslösung 377, 379, 380 bis 382.
 ISHIYAMA, N. 566.
Ixodes 52, 73, 74, 77.
 — *calcaratus* 72.
 — *ricinus* 52, 55, 57—59, 63, 65.
 JACHIMSKY, H. 274, 495.
 JACOB, W. 18, 19, 277, 281.
 JACOBSEN-PALEY, R. 274.
 JAEGER, L. 599, 600.
 JOHANSEN, D. A. 493.
 JOHANNSEN, W. 137.
 JÖRGENSEN, H. 597.
 JORDAN, P. 385.
 JORPES 607.
 JUNGNER 607.
 KABAT, F. 566.
 KAHLE, W. 392, 403, 421, 451, 458, 459, 460, 464, 465, 466.
 Kalymma 586, 509, 513.
 KAMNEV, I. E. 174.
 Kaninchen s. *Lepus cuniculus*.
 KAPLAN, J. 566.
 — R. 530.
 Karyomeren bei *Bothrioplana* 537, 541, 542.
 — *Heterocypris* 627, 628.
 — *Pediculopsis* 70—95.
 KATO, K. 38.
 KATTERMANN, G. 284—299 (Neuer Karyotyp bei Roggen).
 KAUFMANN, B. P. 311, 319, 322, 330, 342, 345, 347, 349, 356—358, 365, 368, 369, 377, 378, 384, 500.
 KAWAGUCHI, E. 94.
 KELLER, R. 608.
 KELLEY, E. 596.
 Kern (s. a. Somakern).
 — -Plasma-Relation 271, 272, 474, 481, 483, 484.
 — -Saft 18, 203—207.
 — -Spindel s. Spindel.

- Kernfärbung, doppelte Chromatophilie (HEIDENHAIN) 596, 597.
 —, vitale bei *Stenobothrus* 157—177.
 Kernstruktur (s. a. Chromosomenstruktur).
 —, chemischer Aufbau von Eizellkernen 590, 591, 594.
 —, — Eiweißveränderung während Mitose 593, 594.
 —, — Eiweißverteilung 562—604.
 — bei *Rhoeo* und *Epidendrum* 474—485.
 — Veränderung durch Verwundung 476.
 Kernvolumen und Chromosomenzahl 479, 481.
 — der Eizellzellen von *Drosophila* 277, 279—281.
 Kernwachstum durch Chromosomenvergrößerung 478—484.
 — durch Chromosomenvermehrung 265 bis 275.
 — bei *Epidendrum* 474—485.
 — durch Kernsaftvermehrung 18, 203, 204, 207, 272, 478—484.
 — durch Polyploidisierung 19, 273.
 — bei *Rhoeo* 474—485.
 —, rhythmisches 18—20, 276, 277, 281.
 KHVOSTOVA, V. V. 311, 315, 319, 325, 329, 330, 345, 357, 358, 365, 384.
 KIESEL, A. 596.
 KIHARA, H. 286.
 KIKKAWA, H. 300, 302, 303, 304.
 Kinetochoren (s. a. Centromeren).
 —, Bau 230—237.
 —, Centriol und 236, 237.
 —, Chromosomenbruch und 236, 237.
 —, Technik der Darstellung 230, 231.
 KING, R. L. 462.
 KIRSANOV, B. A. 384.
 KLINGSTEDT, H. 94, 180, 463.
 KNABEN, N. 57.
 KNAPP, E. 130—146 (K. und HOFFMANN, Geschlechtsumwandlung bei *Sphaerocarpus*).
Kniphofia aloides 24, 25, 495.
 KOCH, A. 59.
 Koinzidenzwert 245, 246.
 KOLLER, P. C. 24, 191—196 (Csik und K., Relationsspirale und Chiasmahäufigkeit).
 KOLTZOFF, N. K. 24, 563.
 Kontakthypothese s. Chromosomenmutationen.
 Kontaktpunkt s. Chromosomenmutationen.
 KOSSEL, A. 563, 564, 565, 569, 570, 587, 591, 592, 593, 597, 599, 605.
 KOSTOFF, D. 486.
 KRACZKIEWICZ, Z. 59, 460, 463—466.
 KRASSNOSSELSKY, T. 566.
 Krebszelle, Mitose 47.
 —, Riesenkerne 283.
 KRUYT, H. R. 171.
 KUHN, E. 492.
 KUTSCHER, F. 564.
 KUWADA, Y. 27, 29, 30, 507, 512, 544, 609, 610.
 LA COUR, L. 27, 28, 487, 504—506, 510, 511, 554, 555, 556, 557, 559.
 LAGERBERG, T. 560, 561.
 Lagewirkung (ci), Feststellung von Translokationen 319—321.
 LAMM, R. 119, 120, 284, 286, 294.
 Lampenbürsten-Chromosomen 25.
 LANDSTRÖM 587, 595, 607, 613.
 LANG, A. 488.
 LA RUE, C. D. 34.
Lathyrus odoratus 181.
 LAWRENCE, E. 589.
Lecanium 462.
Leiotemones, Chromosomenmechanik 178, 185, 187.
 LEOPOLDSIEDER, F. 633.
Lepidoptera 94, 95, 392, 463.
Lepus cuniculus, Eizellkern, chemischer Aufbau (Absorptionsanalyse), 591.
 LESLEY, M. M. 181.
 Letalfaktoren, geschlechtsgebundene, Dosisabhängigkeit 310—314.
 LEVAN, A. 97, 200, 227, 273, 480, 492, 493, 498.
 LEWIS, M. R. 39, 158.
 — W. H. 39, 158.
 LEWITZKY, G. A. 286, 295, 366.
 LEYDIG, F. 74.
Liliaceae, s. *Aloe*, *Bellevalia*, *Gasteria*, *Hyacinthus*, *Kniphofia*, *Lilium*, *Paris*, *Ruscus*, *Trillium*, *Tulipa*.
 LILIENFELD, L. 565, 596.
Lilium 189, 560.
 —, Berechnung der Chromosomenstauung und -kontraktion 24, 25, 30.
 — regale, Berechnung der Chromosomenstauung und -kontraktion 24, 26.
 Lipocondrien, Lebendbeobachtung 161, 162, 163, 164, 169.

- Llaveia* 77.
Locusta migratoria, Relationsspirale und Chiasmahäufigkeit 192—196.
 LOEWENTHAL, W. 95.
 LORBEER, G. 130—132, 135, 142, 144, 145, 488, 493.
Lucilia 277.
 LUDFORD, R. J. 47.
 LUDWIG, W. 241, 300—309 (Boost und L., Mehrfache Chiasmen und gerichtete Chiasmabildung).
Lygaeus saxatilis 2.
 —, Endomitose, Heterochromatin der Geschlechtschromosomen, Meiose, somatische Kerne 197—207.
Lygus innotatus 2.
 —, Heterochromatin der Geschlechtschromosomen 197, 219.
Lygus pratensis 2.
 —, Heterochromatin der Geschlechtschromosomen, Meiose, somatische Kerne 197, 218, 219, 228.
 LYNCH, V. 564.
 MCCLINTOCK, B. 24, 128, 236, 385, 488, 492, 499, 502, 506, 509.
 MCCULLAGH, D. 493.
 MCKAY, J. W. 493.
 MACKENZIE, K. 333.
 MCKNIGHT, R. H. 54, 119.
Macrotylus quadrilineatus 2.
 — Heterochromatin der Geschlechtschromosomen 197, 219, 220.
 MAKAROV, P. 174.
 MAKEL, A. S. 357.
 MALFATTI, 596.
 MALPIGHISCHE Gefäße, polyploide Kerne, Entwicklung bei Heteropteren 1—4, 9—11, 202, 203, 208, 209, 211, 215, 216, 218, 221, 222.
Mammalia s. *Dasyurus*, *Homo*, *Sarcophilus*.
 MANTON, I. 35, 336.
 MARK, H. 529.
 MARQUARDT, H. 226.
 MATHER, K. 119—129 (Chiasmen-Konkurrenz bei diploidem und trisomem Mais), 252, 300, 363.
 MATHEWS, A. 563, 564.
 Matrix (s. a. Chromosomenstruktur) und Spezialsegment 555, 556.
 MATSUURA, H. 24, 488, 492, 493, 498, 506, 555.
Matthiola incana 181, 492.
 MAZIA, D. 599, 600.
 MEHRA, P. N. 493.
 Meiose, *Amphiuma* (Kinetochoren) 233 bis 235.
 —, *Cimex* 105—118.
 —, *Dicranomyia* 337—341.
 —, *Heterocypris* 630, 631.
 —, *Heteroptera* 199, 206—228.
 —, Kinetochoren-Bau 230—237.
 —, *Palomena* 206, 207.
 —, *Pediculopsis* 60—73, 97—99.
 —, *Sauromatum* 270—272.
 —, *Secale cereale* 284—295.
 —, *Stenobothrus* 39, 40.
 —, *Tradescantia* (Kinetochoren) 235.
Melanophus 158.
 MENSINKAI, S. V. 493, 502, 505.
Mercurialis annua 274.
Merodinium 26.
 Merokinese s. Karyomerokinese.
Metapodius 104.
 METCALFE, M. F. 451, 460, 461.
Metrioptera tesellata, Relationsspirale und Chiasmahäufigkeit 192—196.
 METZ, C. W. 99, 388, 459, 461, 582, 586, 589.
 MEYER, A. 596.
Miastor, Polyploidie 463—467.
 — *americana* 421, 451, 459.
 — *metraloas* 392, 403, 421, 451, 458 bis 460, 467.
 MICHAEL, A. D. 73, 74.
 MICKLEY, G. H. 386.
Micromalthus debilis 459.
Micronecta minutissima 2.
 MIESCHER, F. 562, 563, 564, 587, 592, 598, 599, 605.
 MILLOT, J. 74.
 MILOVDOV, P. 596, 597.
 Mitochondrien bei *Heterocypris* 622—624, 628.
 —, Lebendbeobachtung 161, 163
 Mitose (s. a. Kernteilung).
 —, Anaphasebewegung (Heteropteren) 227.
 —, anomale im Pollenkorn 178—190.
 —, Colchicin-Mitose und Endomitose 15, 200, 227.
 —, Eiweißumbau im Kern 593, 594.
 — in Fibroblasten 38.
 — Furchungs-, 79—95, 336—458.
 —, Oxydo-Redoxpotential 47.
 — polyploider Kerne 16, 17, 268.
 —, semimeiotische 181.

- Mitose, *Tradescantia* 34—48.
 —, überzählige im Pollenkern 186—188.
 —, unbalancierter Chromosomenbestand 188, 189.
 —, Viskosität und 45, 46.
 Mitteldarm-Epithel, polyploide Kerne, Entwicklung bei Heteropteren 4, 12, 13, 14, 19, 211.
 MOFFETT, A. A. 98.
 Molekularspirale 191.
 MOLZ, E. 54.
Monocotyledones s. *Amaryllis*, *Epidendrum*, *Liliaceae*, *Rhoeo*, *Sauromatum*, *Secale*, *Tradescantia*, *Zea*.
 MORGAN, L. V. 303.
 — T. H. 119, 303, 360.
 MORGENTHAUER, O. 54.
 MORTIMER Cl. H. 633.
 MÜLLER, G. W. 620, 629 635.
 — CALÉ, C. 620, 632.
 MÜNTZING, A. 284, 286.
 MULLER, H. J. 311, 333, 343, 344, 357, 386, 387.
 MULSOW, K. 336.
Musca 277.
 Mutation (s. a. Chromosomenmutation, Punktmutation).
 — Auslösung durch Grenzstrahlen 323 bis 330.
 — — durch Neutronenstrahlen 333.
 — — durch Ultraviolettstrahlen 333.
 —, Sättigungseffekt 327.
 — Primäreignis 314, 315, 318, 319, 322, 333, 334.
 — Rate, Dosisabhängigkeit 318, 323, 324, 329.
 — — und Wellenlänge 325—327, 329.
 — — und Zeitfaktor 325, 327—329, 331—334.
 —, „sichtbare“, Dosisabhängigkeit 312, 313.
 —, spontane, Chromosomenmutationen 333.
 —, —, relativer Anteil von Letalfaktoren 312, 314.
 —, Trefferkurve 355, 357.
 —, Treffertheorie 318, 327, 331, 344, 386.
 MYRBÄCK 607.
Myrmus miriformis, Thymonukleinsäure und Zellteilung 149, 151, 153.
Mytilus 47.
Myxophyta 46.
 Nährzellkerne von *Oligarces* 421.
 NAGEL, A. 162.
 NAKAMURA, T. 30, 512, 544, 597, 598, 609, 610.
 NANDI, H. K. 493.
Narcissus 178, 189, 500.
 — *bulbocodium* 493, 502.
 — *reflexus* 502.
 NASSONOW, P. 157, 174.
 NAWASCHIN, S. 490.
 NEBEL, B. R. 231, 234, 521.
 Nebenspindel bei *Cimex* 114.
 Nematoden 336.
 NEMEC, B. 597.
Nemertini s. *Cerebratulus*.
Nereis 46.
 Neutronen, Mutationsauslösung 333.
Nicotiana longiflora 493, 495.
 — *plumbaginifolia* 493, 495.
 NIJYAMA, H. 633.
 NILSSON, H. 284.
Nitella mucronata 21.
 NONIDEX, J. F. 634.
 NORDENSKIÖLD, E. 52, 55, 57—59, 63, 65, 74.
Notodromas monacha 621, 627—630, 633, 635.
Notonecta 117.
 Nukleinsäure (s. a. Desoxyribosenukleinsäure und Thymonukleinsäure).
 —, Chromatidenkontraktion und Synthese der 155.
 —, in Chromomeren 30.
 —, Eiweißsynthese und 595, 596, 607, 617.
 —, Feulgen-Reaktion und 150.
 —, Genvermehrung und Nukleinsäureketten 605—619.
 —, Reproduktion, automatische und 605, 606.
 —, Ribose- und Desoxyribosetyp 605, 607, 613.
 Nukleolarbildungskörper 488, 499, 502, 506.
 Nukleolus, Aufbau, chemischer (Absorptionsanalyse) 582—534, 586, 587, 590, 591, 594, 595, 597, 599.
 —, Bildung des 487—492, 499, 505, 508.
 — bei *Bothrioplana* 541, 542.
 —, Endomitose und 200.
 —, *Gerris* 9, 16.
 —, Geschlechtschromosomen und (Heteropteren) 199, 204, 207, 210, 212 bis 214, 216—219, 221—223.

- Nukleolus, Heterochromatin und Stoffwechsel des 586, 587, 594, 595.
 —, *Heterocypris* 622—627.
 —, Lebendbeobachtung 161, 170.
 —, *Oligarces* 463, 464.
 —, *Pediculopsis* 63, 70, 95.
 —, *Rhoeo* 478.
 —, Spezialsegment und 555.
 NYSTRÖM 607.
- OEHLKERS, F. 492.
- Oenocyten, polyploide Somakerne 1, 4, 12, 17.
- Oenothera 226.
- Oktogametogenesis, parthenogenetische 551, 552.
- OLBRYCHT, R. M. 303.
- Oligarces paradoxus*, Chromosomenzahl 400, 401, 416—418.
 —, Furchung 396—458.
 —, Mutante 466.
 —, Nukleolenbildung 463, 464.
 —, pädogenetische Entwicklung, Cytologie der 391—473.
 —, Polyloidie 463—467.
- OLIVER, C. P. 310, 344.
- Omocestus, chemischer Aufbau der Metaphasechromosomen (Absorptionsanalyse) 589, 590.
- Oogenese, *Heterocypris* 630—633.
 —, *Oligarces* 450—455.
 —, *Pediculopsis* 55—73.
- OPFERMANN, E. 52, 98.
- Oriza 493, 495.
- Orthopteroidea s. *Chorthippus*, *Gomphocerus*, *Locusta*, *Metrioptera*, *Omocestus*, *Schistocerca*, *Stenobothrus*.
- Ostracoda s. *Heterocypris*.
- Pädogenese, Cytologie bei *Oligarces* 391 bis 473.
- Paeonia 189.
- PÄTAU, K. 24—30, 52, 55, 57—63, 72, 73, 77, 80, 90, 91, 93, 95—98.
- Packing s. Chromosomenstauung.
 — Faktor s. Stauungs-Faktor.
- PAGENSTECHE, H. A. 74.
- PAINTER, T. S. 276—283 (P. und REINDORP, Endomitose in den Eizellen von *Drosophila*), 474, 587, 589.
- Pallavicinia *Lyellii* 493, 496.
- Palomena *prasinus* 2.
 —, Heterochromatin der Geschlechtschromosomen, Meiose, somatische Kerne 197—199, 206—210, 225, 228.
- PANTIN, C. F. A. 46, 47.
- Paracentrotus* 41.
- Paramaecium* 174.
- Paris, Berechnung der Chromosomenstauungs- und -kontraktion 27.
 — *japonica* 493.
 — *polyphylla* 505, 506, 509, 554, 555, 557, 559.
 — *quadrifolia* 506.
- PARKS, M. E. 38.
- Parthenogenese, Cytologie bei *Bothrioplana* 531—553.
 —, *Heterocypris* 620—637.
- Parthenogenetische Dioogonie bei *Bothrioplana semperi* 531—553.
- Pastinaca sativa* 493, 495.
- PATHAK, C. 500.
- PATTERSON, J. T. 365.
- PAYNE, F. 116.
- PEDERSEN, K. O. 606.
- Pediculoides dianthophilus* 53.
 — *ventricosus* 52, 55, 57—63, 72, 77, 80—98.
- Pediculopsis graminum* 51, 463.
 —, Befruchtung 73—77.
 —, Chromosomenmorphologie 95—99.
 —, Eireifung 55—73.
 —, Karyomerokinese 77—95.
- Pentatoma rufipes* 2.
- , Heterochromatin der Geschlechtschromosomen 198, 216.
- PFEIFFER, H. 526—530 (Feinbau der Riesenchromosomen in polarisiertem Licht) 610.
- Phasengefalleregel 497.
- Phenacoccus* 462.
- PHILIP, J. 178, 179, 189, 492.
- PHILLIPS, H. 529.
- Phlox Drummondii*, Chromosomenstruktur 487, 489, 492, 501, 502, 515.
- Phragmoplast bei *Tradescantia* 37.
- Phytophaga, Polyloidie 463—467.
 — *destructor* 451, 460, 463, 464.
- Picromerus bidens* 2.
- , Heterochromatin der Geschlechtschromosomen, Meiose, somatische Kerne 197, 198, 214, 215, 226.
- Pisces s. *Pristiurus*.
- Plagusia dentipes* 633.
- Plantago fuscens* 493, 495.
 — *major* 493.
- Plethodon 231.

- Polfeldanordnung der Chromosomen im Spermienkern 336, 337, 340, 341, 342, 381.
- POLJANSKY, G. 21.
- Pollenia* 277.
- POLLISTER, A. W. 236.
- Polocyten bei *Bothrioplana* 551, 552.
- Polspindelfasern 256.
- Polstrahlung bei *Heterocypris* 625, 627.
- , fibrillärer Bau 257—259, 261—263.
- Polychaeta* s. *Arenicola*.
- Polyploidie und Chromosomenmechanik 178—190.
- , *Heterocypris* 636.
- , *Miastor* 463—467.
- , *Oligarces* 463—467.
- , *Phytophaga* 463—467.
- , Somakerne s. Somakerne, polyploide.
- Polysomie und Chiasmakonkurrenz beim Mais 119—129.
- Pontocypris monstrosa* 629.
- Porifera* 94.
- Positionseffekt, s. Lagewirkung.
- POULSON, D. 582.
- PRATJE, A. 596.
- Precocity-Theorie (DARLINGTON) 233, 235.
- Primula sechura* 493.
- PRINGLE, H. 564.
- Pristinurus*, Berechnung der Chromosomen-Stauung und -kontraktion 24.
- Prochromosomen bei *Adoxa* 560.
- PROFACH, H. 488, 521—525 (Centromeren in der Pollenkornmitose von *Tradescantia*).
- Protenor belfragei* 226, 227.
- Protozoa s. *Actinophrys*, *Aggregata*.
- PROKOPIEVA-BELGOVSKAYA, A. A. 225, 228, 365, 368.
- PROSINA, M. 493, 496.
- PROWAZEK, S. 158.
- Psammecinus miliaris* 543, 608.
- , Eizellkern, chemischer Aufbau (Absorptionsanalyse) 590, 591.
- , Spindel-Doppelbrechung und Zugfasertheorie der Chromosomenbewegung 253, 260—263.
- Pseudococcus* 462.
- Punktmutationen, Beziehung von Chromosomenmutationen und 310—316, 329, 333, 334.
- , Dosisabhängigkeit 313.
- Pyrhrocoris apterus* 2.
- RABL, C. 336.
- Rana* 25.
- RANDOLPH, L. F. 116.
- Ranunculus calandrinoides* 493, 495.
- RECK, B. 250, 303.
- REDFIELD, H. 306.
- Reduktion, äquationelle und reduktionelle Verteilung (*Secale*) 290—293.
- , Post- und Prae- (*Cimex*) 108.
- , somatische 20.
- REINDORF, E. C. 276—283 (PAINTER und R., Endomitose in den Einährzellen von *Drosophila*).
- REINHARD, M. 566, 567, 569.
- REISINGER, E. 531—553 (Cytologie der parthenogenetischen Dioogonie).
- REITBERGER, A. 391—473 (Cytologie der pädogenetischen Entwicklung von *Oligarces*).
- Rekombinationsbereich s. Chromosomenmutationen.
- Relational coiling s. Relationsspirale.
- Relationsspirale (relational coiling) und Chiasmahäufigkeit 191—196, 507, 510.
- Reliktspirale 26, 507.
- RESENDE, F. 486—520 (Sat-Differenzierungen, Spiralbau und Chromomata in der Wurzelspitzenmitose), 557.
- Restitutionskern bei *Bothrioplana* 538, 540, 545.
- Restitutionskernbildung und Spezialsegmente 561.
- REUSS, A. 355.
- REUTER, E. 51—55, 57, 58, 73, 75, 77 bis 79, 92, 93, 227.
- RHOADES, M. M. 120, 128, 236.
- Rhoeo discolor* 560.
- , Kernwachstum und Kernbau 474—481, 483, 485.
- Rhynchelmis* 608.
- RIES, E. 10, 21, 157, 162, 163, 165, 173 bis 175.
- Riesenchromosomen s. Speicheldrüsenchromosomen.
- Ringchromosomen, bizenrische 385.
- Röntgenauslösung von Chromosomenmutationen s. Chromosomenmutationen.
- Roggen s. *Secale cereale*.
- ROSS, W. 566.
- RÜCKERT, J. 24.
- Rumex acetosa* 498.

- Ruscus aculeatus*, Chromosomenmechanik 178, 184, 185.
- SACHAROV, V. V. 313.
- Salamandra maculata* 336.
- SAMBON, L. W. 74.
- Sammelchromozentren (s. a. Chromozentren).
- , *Gerris* 3, 4.
- , *Heterocypris* 634.
- SAMSON, K. 73, 74.
- SANDS, H. C. 38.
- Sarcophilus*, Berechnung der Chromosomenstauung und -kontraktion 24.
- Sat-Chromosom, Bastardierung und 498.
- , Differentialreaktion und 504—506.
- bei *Gerris* 9.
- bei *Heteroptera* 199, 204, 207, 212, 213, 215, 218, 220.
- bei *Rhoeo* 477, 478.
- bei *Sauromatum* 267, 269, 270, 271.
- bei *Secale* 286, 294—297.
- , Wurzelspitzenmitose in 486—515.
- Sat-Zone, Chromonema in 509—515.
- , Nuklealreaktion der 499—506.
- , Spiralstruktur der 506—510.
- SATŌ, D. 188, 488, 492, 495, 497, 502.
- Sauromatum guttatum* 19, 226, 474, 480, 485.
- , Kernwachstum durch Chromosomenvermehrung 265—275.
- SAX, H. J. 24, 26, 507.
- K. 24, 26, 27, 178, 182, 186—188, 192, 311, 319, 331, 332, 345, 357, 363, 385, 386, 487, 507.
- SCHAEDE, R. 158, 500.
- SCHAFFSTEIN, G. 513, 514.
- SCHENCK, E. 563, 564.
- Schistocerca paranensis*, Relationsspirale und Chiasmahäufigkeit 192—196.
- *gregaria*, Relationsspirale und Chiasmahäufigkeit 192—196.
- SCHIWAGO, P. J. 543.
- SCHLEIP, W. 620, 630, 631, 635.
- SCHMALZ, J. 620—622, 627—629, 633.
- Schnetterlinge s. *Lepidoptera*.
- SCHMIDT, E. I. 303.
- , U. 55, 57, 58.
- , W. I. 30, 253—264 (Doppelbrechung der Kernspindel und Zugfasertheorie der Chromosomenbewegung), 526, 527, 529, 543, 608, 610, 614, 616.
- SCHMIEDBERG, O. 563.
- SCHNEIDER, B. 255.
- SCHRAEDER, F. 52, 55, 72, 73, 77, 93, 94, 96, 98, 227, 230—237 (Bau der Kinetochoren in der Meiose), 462, 521, 522, 633.
- SCHULTZ, J. 119, 148, 303, 360, 582, 586 bis 589, 594, 595, 605—607.
- SCHWARZ, F. 597.
- Sciara* 388, 459, 461, 466, 582, 589.
- *coprophila* 461.
- *ocellaris* 461.
- *reynoldsi* 461.
- Scorzonera hispanica* 500.
- SCOTT, A. CH. 459.
- Secale cereale* 119, 120, 181.
- , Berechnung der Chromosomen-Stauung und -kontraktion 24.
- , neuer Karyotyp, Meiose 284—299.
- , Nichtpaarung 294.
- SEILER, J. 94, 95, 392, 463.
- Sejus* 74.
- SEKERA, E. 552.
- Sekundärspindel bei *Tradescantia* 37, 38.
- SEREBROVSKY, A. 315, 319, 344, 356.
- SHARP, L. W. 232, 488.
- SHMARGON, E. N. 486.
- SIDKY, A. R. 357, 387.
- SIDOROV, B. 321.
- Sigara carinata* 2.
- , Heterochromatin der Geschlechtschromosomen, Meiose, somatische Kerne 197, 221—223.
- SIGNER, R. 148, 606, 608, 610, 614, 617.
- Simulium* 589.
- SINOTŌ, Y. 488, 498, 502.
- SIZOVA, M. 366.
- SLACK, H. D. 104—118 (Struktur-Heterozygote bei *Cimex*), 633.
- SMITH, F. H. 495.
- SOKOLOFF, I. 52, 72, 74, 98, 99.
- SOKOLOV, N. N. 321.
- Somakerne, polyploide.
- bei *Adoxa* 561.
- , Chromosomenvolumen 474—485.
- in Eizellen (*Drosophila*) 276, 277, 281, 282.
- durch Endomitose 200, 207.
- bei *Epidendrum* 474.
- bei Heteropteren 1—22, 197—229.
- durch innere Teilung 474, 490, 484.
- durch Kernverschmelzung 13.
- , Mitose 267—272.
- durch Restitutionskernbildung 13, 16, 17.
- bei *Rhoeo* 474, 480.

- Somakerne bei *Sauromatum* 265—275.
 Speicheldrüsen, polyloide Kerne, Entwicklung bei Heteropteren 4, 11, 18, 19, 201, 203, 204, 209, 220, 221.
 Spermatogenese, Cimez 105—118.
 —, *Dicranomyia* 338—341.
 —, *Heterocypris* 621—630.
 —, *Locusta* 193—195.
 —, *Metriopectera* 193—195.
 —, *Pediculopsis* 71—77.
 —, *Schistocerca* 193—195.
 —, Umbau von Eiweißsubstanzen im Kern 564, 565, 592, 593.
 Spermien, chemischer Aufbau bei *Coregonus*, Flußbarbe, Forelle, Hering, Kabeljau, Lachs, Karpfen, Makrele, Plötze, Stör, Gans und Stier 562 bis 566.
 — von *Heterocypris* 629, 630.
 —, oligopyrene 548.
 Spermienkern, Aufbau, chemischer 562 bis 565, 592, 593.
 —, Chromosomenanordnung 336—342, 368, 378, 379, 381, 382, 387.
 Spezialsegmente, Chiasmata und 559.
 —, Chromosomenbrücken und 559, 560.
 —, Matrix und 555, 556.
 —, Nukleolus und 555.
 —, Spiralisation 557.
 —, temperaturbedingte an Chromosomenenden 554—561.
 —, Trabanten und 555, 557.
 —, Vakuolisierung und 556.
Sphaerocarpus Donnellii, Geschlechts- umwandlung 130—146.
Spinacia 273.
 Spindel (s. a. Halb-, Hohl-, Neben-, Pol- und Zentral-Spindel).
 — Asymmetrie 182, 184.
 — Doppelbrechung 253—264, 543.
 — Durchteilung 259, 263.
 — Entatehung 253, 254, 256, 263.
 — fibrillärer Bau 253—258, 263.
 — bei *Heterocypris* 625, 627.
 —, intranukleäre 253.
 — Mechanismus 181—187.
 — bei *Pediculopsis* 65, 69, 70, 72, 89, 90.
 — in polyploiden Kernen 14—17.
 —, Sekundär- bei *Tradescantia* 37, 38.
 —, Stemmkörpertheorie 38, 39, 46.
 — Viskosität 38, 45, 46.
 —, Zugfasertheorie 253—264.
 — Zwischenkörper 255—258, 261.
 Spirale, Groß- (major) 27—29.
 Spirale, Klein- (minor) 27—29.
 — Molekular- (internal) 26, 29.
 — Relikt- 26, 507.
 — Relations- und Chiasmahäufigkeit 191—196.
 —, submikroskopische 30.
 Spiralisation 23—32, 180, 181, 184, 189.
 —, Altspiralprophase 507.
 —, chemische Behandlung und 27, 29.
 — heterochromatischer Chromosomen 25.
 —, Hitzebehandlung und 27, 29.
 — Koeffizient 25, 28.
 —, Neuspiralprophase 509.
 — in Sat-Zone 506—510.
 — bei *Sauromatum* 271.
 — in Wurzelspitzenmitosen 486, 505 bis 512.
 —, Zykluswende punkt der 512.
 Speicheldrüsenchromosomen, Aufbau, chemischer 615—617.
 —, Chromozentrum, chemischer Aufbau 578, 579, 581, 584, 585, 587—589.
 —, Doppelbrechung 30, 609—614, 617.
 —, euchromatische Scheiben, chemischer Aufbau 583—585, 587, 594.
 —, Feinbau in polarisiertem Licht 526 bis 530, 614, 615.
 —, Heterochromatin, chemischer Aufbau 581, 584, 585, 587.
 — als Interphasestrukturen 587—589.
 —, Längenwachstum 588, 589.
 —, Länge von Eu- und Heterochromatin 25.
 —, mikrurgische Dehnung 527, 528.
 —, Mutationsanalyse 343—390.
 —, Nukleinsäureverteilung 155, 156.
 —, Puffs, chemischer Aufbau 582, 584 bis 587.
 —, Spiralisation 30.
 —, Ultraviolettabsorptionsspektren 578 bis 589, 592.
 —, Vielstranghypothese 276, 281, 282.
 —, Zwischenscheiben, chemischer Aufbau 580—583, 585, 594.
Spirogyra 46, 237.
 STADLER, L. J. 315, 319, 343, 356, 384, 385.
 STAUDT, W. 564.
Stauroderus 29.
 Stauungs-Faktor (packing factor) 27, 513.
 STEDING, E. 73, 77.
 STEIL, W. N. 561.
 STEINBERG, A. G. 119.

- Stemmkörper s. Spindel.
Stenobothrus lineatus 255.
 —, Bewegungsgeschwindigkeit der Chromosomen 39, 40.
 —, vitale Kernfärbung 157—177.
 STENSTRÖM, W. 566, 567, 569.
 STEPOPE, G. 116.
 STEUDEL, H. 563.
 STEWART, F. C. 53.
 STONE, F. 566.
 —, L. H. A. 303.
 —, W. 365.
 Strahlenauslösung von Mutationen 310 bis 335, 343—390.
 STRANGEWAYS, T. S. P. 39.
 STRAUB, J. 27, 486, 507, 509.
 Struktur-Heterozygotie bei *Cimex* 104 bis 118.
 STUBBE, H. 311.
 STURTEVANT, A. H. 303.
 SUCHE, M. 365.
 SVEDBERG, T. 606.
Sycon 94.
Syrmastes marginatus 2.
 —, Heterochromatin der Geschlechtschromosomen 197, 198, 223, 224.
 TAGAKI, F. 286.
 TATUNO, S. 493.
 TAYLOR, W. R. 491.
 T-Chromosom (*Secale cereale*) 287, 288, 289, 290, 291—299.
 Teilungsanregung durch Wundreiz 266.
 TELLYESNICZKY, K. VON 158.
 Temperaturkoeffizient der Chromosomenbewegung 41—45, 49.
 TEORELL, T. 578, 596.
 Terminalisation s. Chiasmata.
Tetranychus bimaculatus 52, 55, 72, 74, 77, 93, 94, 96, 98.
 Tetraploide Phase bei *Bothrioplana* 538, 548, 549.
 THIENEMANN, A. 621.
 THIMANN, K. V. 47.
 THOMAE, H. 58.
 THOMAS, P. T. 37.
 THOMSEN, M. 462.
 THOR, S. 74.
 Thymonukleinsäure (s. a. Desoxyribonukleinsäure und Nukleinsäure).
 —, Aufbau 148.
 TIMOFÉEFF-RESSOVSKY, N. W. 310—316 (Strahlenausgelöste Punkt- und Chromosomenmutationen bei *Drosophila*), 318, 325, 333, 345, 351, 357, 356.
 TINIAKOV, G. G. 321.
 TISCHLER, G. 596.
Tischeria 57.
 Trabanten-Chromosom 502, 505, 513.
 — bei *Pediculopsis* 96.
 — bei *Sauromatum* 267, 269, 270, 274.
 — bei *Secale* 286, 288, 294—296.
 —, Spezialsegment und 555, 557.
Tradescantia 331, 357, 363, 386—388.
 —, Berechnung der Chromosomenstauung und -kontraktion 27, 29.
 —, Chromosomenmechanik 181, 184, 187, 188.
 —, Kinetochoren-Bau 231—235.
Tradescantia brevicaulis 179.
 — *gigantea*, Centromeren in Pollenkornmitose 521—525.
 —, *paludosa* 192.
 —, Berechnung der Chromosomenstauung und -kontraktion 27.
 — *reflexa* 231, 232, 334.
 — *virginiana*, Chromosomenbewegung 33—48.
 —, Chromosomenmechanik 178, 184, 185.
 TRANKOWSKY, D. A. 230, 232.
 Translokation des Centromers 295.
 — bei diploid-parthenogenetischen Rassen 636.
 —, Dosisabhängigkeit 312, 314, 357, 358, 386, 387.
 —, Feststellung durch Lagewirkung (ci) 319—330.
 —, Röntgenauslösung 377—382.
 — bei *Sphaerocarpus* 136, 141.
 Trefferkurve s. Mutationen.
 Treffertheorie s. Mutationen.
Trianea bogotensis 474.
Trichoptera 94, 463.
Tricyrtis 488, 497.
Trillium 499, 506, 507, 510, 512, 555.
 — *erectum*, Chromosomenstruktur 493, 497, 503, 505, 506.
 — *kamtschaticum*, 493, 495, 506.
 —, Berechnung der Chromosomenstauung und -kontraktion 24.
 — *longiflorum*, Chromosomenstruktur 493, 497, 503, 505, 506.
 — *luteum* 493, 495.
 — *ovatum*, Chromosomenstruktur 487, 489, 493, 497, 500, 502, 503, 505 bis 508, 511, 513—515.
 — *rivale* 493.
 — *sessile* 493.
 — *Smallii* 493.

- Trillium Tschonoskii* 493.
Trimerotropis 158.
 TROMBETTA, V. V. 474, 481.
Trombidium 74.
Tulipa 128, 521, 524.
 —, Berechnung der Chromosomenstauung und -kontraktion 25—29.
 —, Chromosomenmechanik 178—187.
 — *Clusiana*, Chromosomenmechanik 178, 179, 185.
 — *Eichleri*, Chromosomenmechanik 178, 179.
 — *Hageri*, Berechnung der Chromosomenstauung und -kontraktion 24.
 — *lanata*, Chromosomenmechanik 178, 180.
 — *praecox*, Chromosomenmechanik 178, 180, 183, 187.
 — *silvestris*, Berechnung der Chromosomenstauung und -kontraktion 24.
 — —, Chromosomenmechanik 178—185.
 — *stellata*, Chromosomenmechanik 178, 179.
 — *Whittalli*, Chromosomenmechanik 178, 184.
Turbellaria s. *Bothrioplana*.
 TUZET, O. 74, 94.
Tyroglyphidae 57.
 ULLRICH, H. 527, 610.
 ULRICH, H. 392, 393, 467.
 Ultraviolettabsorptionsspektren, Allgemeines und Methodik 151, 152, 566 bis 578.
 — von Metaphasechromosomen 589 bis 596.
 — von Speicheldrüsenchromosomen 578—589, 592.
 — von Zellbestandteilen 147—156.
 Ultraviolettbestrahlung, Mutationsauslösung 333.
 Unisexuelle Nachkommenschaften bei *Cimex* 105.
 UPCOTT, M. 23—32 (DARLINGTON und U., Messung der Chromosomenkontraktion und -stauung) 128, 178—190 (Chromosomenmechanik, anomale Mitose im Pollenkorn), 236, 513, 521, 524.
 VANDEL, A. 635.
 VEJDOVSKY, F. 548.
Velia currens 2, 200, 224.
Vicia faba 95, 192, 488.
Vicia faba, Berechnung der Chromosomenstauung und -kontraktion 24.
 Vitalfärbung bei *Stenobothrus* 157—177.
 VLKŠ, F. 47.
 WADA, B. 37.
 WAGNER, J. 72.
 WARMEKE, H. E. 493.
 WARREN, E. 74.
 WASSERMANN, F. 255.
 WEILL, R. 94.
 WEISMANN, A. 462, 467, 620.
 WENT, F. W. 47.
 WESCHENFELDER, R. 315.
 WESTERGAARD, M. 492.
 WHITE, M. J. D. 24, 25, 97, 192, 544.
 —, P. R. 34.
 WILLIAMS, L. F. 47.
 WILSON, E. B. 104, 191, 199, 228, 551.
 WINKLER, H. 625.
 WOHLFAHRT 587, 595.
 WOHLGEMUTH, R. 620, 635.
 WOLCOTT, G. B. 488, 493.
 —, R. H. 53.
 WOLF, E. 336—342 (Chromosomenanordnung im Spermienkern von *Dicranomyia*), 381.
 WOLTERECK, R. 620, 632.
 WOODS, W. 488.
 WRINCH, D. M. 526, 616.
 WULFF, H. D. 495.
 Wurzelspitzenmitose 486—520.
 YAMPOLSKY, C. 274.
 ZACHARIAS, E. 596, 597.
Zea Mays 116, 226, 232, 384, 385, 488.
 —, Berechnung der Chromosomenstauung und -kontraktion 24.
 —, Chiasmenkonkurrenz 119—129.
 ZEIGER, K. 158, 172.
 Zeitfaktor und Mutationsrate 325, 327 bis 329, 331—334.
 Zellkern s. Kern.
 Zellteilung, Desoxyribosenukleinsäure und 147—156.
 — in Wurzelspitzenkultur 34.
 Zelltypen, kolloidchemische Zustände in verschiedenen 171—175.
 Zentralspindel 180, 256, 534, 541.
 Zerstäubungsstadium bei *Gerris* 7, 18, 225.
 — bei *Sauromatum* 267.
 ZIMMER, K. G. 323, 325, 333.
 ZIMMERMANN, A. 597.
 Zwischenkörper s. Spindel.

